

# Physikalische und mikrobiologische Studien zu Therapiepotentialen und -risiken für die Anwendung nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen an kutanen Oberflächen

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

<der Naturwissenschaften>

vorgelegt von

Andreas Helmke

aus Einbeck

genehmigt von der Fakultät für Natur- und Materialwissenschaften der Technischen Universität Clausthal,

Tag der mündlichen Prüfung

18. Dezember 2013

**Vorsitzender der Promotionskommission**

Prof. Dr. rer. nat. Albrecht Wolter

**Hauptberichterstatter**

apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Maus-Friedrichs

**Mitberichterstatter** Prof. apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Viöl

**Mitberichterstatter** Univ.-Prof. Dr. med. Steffen Emmert

*Meinem lieben Papa*





„Wo an Fakten gehobelt wird, fallen Späne der Information.“  
- Harald Lesch (2009) -



## Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Viöl, der zunächst durch die Anregung zu diesem Forschungsthema sowie durch die Bereitstellung eines kreativen Arbeitsumfelds die strukturellen Grundlagen für diese Arbeit legte, um während der Betreuung durch fachliche Diskussionen und Hinweise zu ihrem Gelingen beizutragen.

Bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Maus-Friedrichs möchte ich mich für die Übernahme der Funktion des Hauptbetreuers, die Durchsicht und konstruktive Kritik während der Erstellung der Dissertation sowie die Unterstützung bei vielen formalen Rahmenbedingungen des Promotionsvorhabens ganz herzlich bedanken.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Steffen Emmert von der Universitätsmedizin Göttingen gebührt mein Dank für die konstruktive und äußerst lehrreiche Zusammenarbeit sowie die Übernahme der Mitberichterstattung bei dieser Arbeit.

Mein Dank gilt weiterhin dem Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF), welches im Rahmen der Förderung der von mir bearbeiteten Drittmittelprojekte mit den Förderkennzeichen 13N9089 („BioLiP“), 17PNT001 („PlaStraKomb“) und 13N1190 („Campus PlasmaMed 2“) die finanziellen Mittel für die Bearbeitung der Themen bereitgestellt hat.

Darüber hinaus möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. rer. nat. Karin Petersen, sowie ihrem Team um Dipl. Biol. Ulrich-Markus Fritz und Dr. Petra Möhlenhoff von der Fakultät Bauen und Erhalten der HAWK in Hildesheim und bei Dipl.-Ing. Petra Grünig von der Fakultät Soziale Arbeit und Gesundheit der HAWK in Holzminden für die tolle, unkomplizierte und vertrauensvolle Zusammenarbeit bei den mikrobiologischen Experimenten bedanken. Genau so gilt mein Dank Frau Petra Laspe von der Universitätsmedizin Göttingen für ihren tatkräftigen Einsatz und unermüdlichen Eifer während der Untersuchungsreihen an *Staphylococcus epidermidis*. Ohne die methodischen Kompetenzen dieser Personen hätten die Untersuchungsreihen an Mikroorganismen wohl nicht gelingen können.

Den Kollegen des Labors für Laser- und Plasmatechnik an der Fakultät Naturwissenschaften und Technik der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst gebührt mein herzlicher Dank.

Sie waren für mich stets hilfreiche Ansprechpartner, wenn ich methodische Unterstützung benötigte, wissenschaftliche Grundsätze erörtern und fachliche Themen diskutieren wollte. Das ausgesprochen freundschaftliche Miteinander empfand ich als großartige und prägsame Erfahrung. Hervorzuheben ist dabei MSc. Dennis Hoffmeister, der mir mit seinem kreativen Denken, zielgerichteten Handeln und seiner methodischen Kompetenz während eines Großteils der experimentellen Arbeiten zur Seite stand und den ich als wertvollen Mitarbeiter schätzen gelernt habe. Darüber hinaus danke ich MSc. Roland Damm und MSc. Georg Avramidis für viele fruchtbare Fachdiskussionen.

Dr. Stephan Wieneke danke ich für die Durchsicht der Arbeit und unzählige Fachdiskussionen, die mein wissenschaftliches Denken und meine Modellvorstellung von Atmosphärendruckplasmen nachhaltig beeinflusst haben.

Herrn Dr. Oliver Höfft aus der Abteilung Atom- und Molekülphysik an Oberflächen an der TU Clausthal danke ich für die konstruktive Kritik bei der Konzeption meiner Dissertation und die Hilfestellung bei formalen Fragen.

Herrn Dr. Dirk Wandke gilt mein Dank dafür, dass er mir durch seine wirtschaftlich-technische Perspektive auf die Plasmamedizin eine differenziertere Wahrnehmung der Forschungs- und Entwicklungsarbeiten weit über den „Labor-Tellerrand“ hinaus ermöglichte.

Schließlich möchte ich mich bei meinen Eltern bedanken, denen meine Ausbildung stets ein Anliegen war und die mich während meiner Studienzeit stets unterstützt haben.

Meiner Lebensgefährtin Melanie Hopp gilt mein besonderer Dank dafür, dass sie während der Erstellung dieser Arbeit der Anker meines Privatlebens war und besonders in schwierigen Phasen stets Verständnis aufbringen konnte.

## Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene physikalische, chemische und mikrobiologische Methodiken angewendet, um im Vorfeld klinischer Studien am Patienten die Wirk- und Risikopotentiale eines nicht-thermischen Atmosphärendruckplasmas für therapeutische Anwendungen in der Dermatologie zu erforschen. Das Plasma wird dabei durch eine in Luft betriebene, gepulste Dielektrisch Behinderte Entladung (Volumen-DBE) erzeugt.

In der bestimmungsgemäßen Anwendung wird das biologische Gewebe als Gegenelektrode dienen, weshalb die gerätetechnischen Umsetzungen als Ein-Elektroden-Systeme konzipiert sind. In dieser Arbeit werden die Funktionsmuster jedoch ausschließlich gegen biologische (in vitro) oder technische Modellelektroden betrieben.

Mit Blick auf die Wirkpotentiale der Volumen-DBE wurde ein Einfluss auf das pH-Milieu des menschlichen Hydro-Lipid-Films nachgewiesen. Die damit in Aussicht gestellte Absenkung des Wund-pH-Wertes bei der Anwendung am Patienten erscheint für bestimmte Phasen der Wundheilung vorteilhaft und heilungsfördernd. Darüber hinaus wurden anhand eines nosokomialen Keims (*Staphylococcus epidermidis*) die bakteriziden Mechanismen der Plasmaeinwirkung studiert. Dabei zeigte sich eine ausgeprägte Sensitivität der Zellmembran gegenüber den Plasmen. Anhand der Inaktivierungseffizienzen konnten synergistisch wirkende Mechanismen beobachtet werden, die auf den wichtigen Einfluss von Radikalen bei der Plasmainaktivierung hindeuten. Darüber hinaus wurde die Sensitivität verschiedener Hautpathogene aus den biologischen Reichen der Bakterien, Hefen und Pilze gegenüber dem nicht-thermischen Plasma untersucht. Neben der Erkenntnis, dass die mikrobizide Wirkung innerhalb der Hautpathogene dosisabhängig ist, konnte auch gezeigt werden, dass die Flankensteilheit der Versorgungsspannung der Plasmaquelle einen Einfluss auf die Inaktivierungseffizienz hat.

Die Risikopotentiale, die sich während der Anwendung des Plasmas auf der Haut für Patient und Therapeut ergäben, wurden durch numerische und experimentelle Studien evaluiert. Dabei konnte eine Gefährdung des Patienten durch elektrische Durchschläge der Keramikelektroden, durch thermische Einflüsse sowie durch elektromagnetische Strahlung weitestgehend ausgeschlossen werden. Während die relativ hohen Ozonkonzentrationen im Plasmavolumen nicht zu unmittelbaren Schäden des Gewebes führen sollten, muss ein Mindestabstand von ca. 10 cm zwischen dem Plasma und den Atmungsorganen eingehalten werden, um Konzentrationen unterhalb des gesetzlichen Grenzwertes sicherzustellen.

## Abstract

In the present study, various physical, chemical and microbiological methods were applied to investigate the effectiveness and potential risks of a non-thermal atmospheric pressure plasma for therapeutic applications in dermatology in the forefront of clinical studies on patients. The plasma is generated by an air-operated, pulsed Dielectric Barrier Discharge (volume DBD).

During the intended application, the biological tissue will serve as the counter electrode, so that the technical functional models are designed as one-electrode systems. However, in this work, these devices are operated exclusively against biological (in vitro) or technical model electrodes.

Regarding the action potentials of the volume DBD, an influence on the pH environment of the human hydro-lipid film was demonstrated. The prospect of lowering the wound pH in the application on patients appears to be advantageous and promotes healing for certain phases of wound healing. In addition, using a nosocomial germ (*Staphylococcus epidermidis*), the bactericidal mechanisms of the plasma exposure were studied. Hereby, a pronounced sensitivity of the cell membrane to the plasmas was evident. Based on the inactivation efficiency, synergistic mechanisms could be observed which indicate the important influence of radicals for the plasma inactivation. In addition, the sensitivity of different skin pathogens from the biological kingdoms of bacteria, yeasts and fungi was studied with respect to the plasma exposition. In addition to the finding that the microbicidal activity within the skin pathogens is dose-dependent, it could be shown that the slope of the supply voltage of the plasma source has an effect on the inactivation efficiency.

The potential risks which would arise during the application of the plasma on the skin for patient and therapist were evaluated by numerical and experimental studies. Thereby, the risk for the patient by electrical breakdown of the ceramic electrodes, by thermal effects and by electromagnetic radiation could be largely excluded. While the relatively high ozone concentrations in plasma volume should not cause immediate damage to the tissue, a minimum distance of 10 cm between the plasma and the respiratory system must be maintained to ensure concentrations below the legal limit.

# Publikationen und Konferenzbeiträge

## themabezogene Publikationen

- HELMKE, A. ; WANDKE, D. ; MAHMOODZADA, M. ; WELTMANN, K.-D. ; VIÖL, W.: Impact of electrode design, supply voltage and interelectrode distance on safety aspects and characteristics of a medical DBD plasma source, In: *Contributions to Plasma Physics 53* (2013), Nr. 9, S. 623-638.
- HIRSCHBERG, J. ; OMAIRI, T. ; MERTENS, N.; HELMKE, A ; EMMERT, S. ; VIÖL, W.: Influence of excitation pulse duration of dielectric barrier discharges on biomedical applications. In: *Journal of Physics D: Applied Physics 46* (2013), 165201(8pp).
- EMMERT, S. ; BREHMER, F. ; HÄNßLE, H. ; HELMKE, A ; MERTENS, N. ; AHMED, R. ; SIMON, D. ; WANDKE, D. ; MAUS-FRIEDRICHS, W.; DAESCHLIEN, G. ; SCHÖN, M. P. ; VIÖL, W.: Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more. In: *Clinical Plasma Medicine 1* (2013), Nr. 1, S. 24-29.
- HELMKE, A. ; GRÜNIG, P. ; FRITZ, U.-M. ; WANDKE, D. ; EMMERT, S. ; PETERSEN, K. ; VIÖL, W.: Low-temperature Plasma - a Prospective Microbicidal Tool. In: *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery 7* (2012), Nr. 3, S. 223-230.
- HELMKE, A. ; HOFFMEISTER, D. ; BERGE, F. ; EMMERT, S. ; LASPE, P. ; MERTENS, N. ; VIÖL, W. ; WELTMANN, K.-D.: Physical and Microbiological Characterisation of Staphylococcus epidermidis Inactivation by Dielectric Barrier Discharge Plasma. In: *Plasma Processes and Polymers 8* (2011), S. 278-286.
- HELMKE, A. ; HOFFMEISTER, D. ; MERTENS, N. ; EMMERT, S. ; SCHÜTTE, J. ; VIÖL, W.: The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air. In: *New Journal of Physics 11* (2009), 115025(10pp).
- AWAKOWICZ, P. ; BIBINOV, N. ; BORN, M. ; BUSSE, B. ; GESCHE, R. ; HELMKE, A. ; KAEMLING, A. ; KOLB-BACHOFEN, V. ; KOVACS, R. ; KUEHN, S. ; LIEBMANN, J. ; MERTENS, N. ;

NIEMANN, U. ; OPLAENDER, C. ; PORTEANU, H.-E. ; SCHERER, J. ; SUSCHEK, C. ; VIÖL, W. ; WANDKE, D.: Biological Stimulation of the Human Skin Applying Health-Promoting Light and Plasma Sources. In: *Contributions to Plasma Physics 49* (2009), Nr. 9, S. 641-647.

## thema**fremde Publikationen**

- HLUSCHI, J. ; ROTH, P. ; HELMKE, A. ; HERLITZE, L. ; VIÖL, W.: UV- and plasma treatment of thin silver layers and glass surfaces. In: *Materials Chemistry and Physics 100* (2006), Nr. 1, S. 68-71.
- WANDKE, D. ; SCHULZE, M. ; KLINGNER, S. ; HELMKE, A. ; VIÖL, W.: „3-in-1“ Plasma wire system. In: *Surface and Coating Technology 200* (2005), Nr. 1-4, S. 700-703.

## Konferenzbeiträge

- TIEDE, R. ; SEEBODE, C. ; DAESCHLEIN, G. ; LASPE, P. ; APEL, A. ; BREHMER, F. ; HÄNßLE, H. ; HELMKE, A. ; MERTENS, N. ; VIÖL, W. ; MAUS-FRIEDRICHS, W. ; SCHÖN, M.P. ; WANDKE, D. ; EMMERT, S.: Cold atmospheric pressure plasma in dermatology, *COST Workshop* (2013), Kerkrade, Niederlande, 03.-04. Mai.
- HELMKE, A. ; HOFFMEISTER, D. ; EMMERT, S. ; LASPE, P. ; WELTMANN, K.-D. ; VIÖL, W.: Low-temperature plasma generated by electrical gas discharge - a topical microbicidal tool at atmospheric pressure air, *BIT's 1st Annual World Congress of Microbes* (2011), Beijing, China, 29. Juli-01. August.
- VIÖL, W. ; MERTENS, N. ; HELMKE, A.: Plasmaquellen für medizinische Anwendungen, *Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft* (2011), Kiel, 28.-31. März.
- HELMKE, A. ; MERTENS, N. ; HOFFMEISTER, D. ; WANDKE, D. ; SUSCHEK, C. ; BUSSE, B. ; VIÖL, W.: Biochemical and histological aspects of plasma treatment in dermatology, *3rd International Conference on Plasma Medicine (ICPM)* (2010), Greifswald, 19.-24. September.
- MERTENS, N. ; HELMKE, A. ; HOFFMEISTER, D. ; WANDKE, D. ; LASPE, P. ; EMMERT, S. ; VIÖL, W.: Inactivation of Staph.



epidermidis - a comparative study of DBD and UV, *3rd International Conference on Plasma Medicine (ICPM)* (2010), Greifswald, 19.-24. September.

- MERTENS, N. ; HELMKE, A. ; GOPPOLD, A. ; EMMERT, S. ; KAEMLING, A. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W.: Low Temperature Plasma Treatment of Human Tissue, *2nd International Conference on Plasma Medicine (ICPM)* (2009), San Antonio, USA, 16.-20. März.
- MERTENS, N. ; HELMKE, A. ; VIÖL, W.: Dielectric Barrier Discharge Plasma - an upcoming approach in skin treatment, *2nd International Workshop on Plasma-Tissue Interactions* (2009), Greifswald, 04.-06. Februar.
- HELMKE, A. ; KLINGNER, S. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W.: Plasma treatment of endless iron wire at atmospheric pressure, *International Workshop on Cold Atmospheric Pressure Plasmas: courses and Applications (CAPPSA)* (2005), Brügge, Belgien, 30. August-02. September.

## Poster

- HELMKE, A. ; MAHMOODZADA, M. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W.: Bestimmung von Ozonkonzentrationen und UV-Dosis einer plasmamedizinischen DBD-Quelle, *16. Fachtagung für Plasmatechnologie (PT-16)* (2013), Greifswald, 18.-20. Februar.
- HELMKE, A. ; HOFFMEISTER, D. ; MERTENS, N. ; EMMERT, S. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W.: Milieu alterations of biological surfaces by non-thermal plasma at atmospheric pressure, *Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft* (2010), Hannover, 8.-12. März.
- WANDKE, D. ; KLINGNER, S. ; HELMKE, A. ; VIÖL, W.: „3-in-1-Plasma-Draht-Anlage, *Frühjahrstagung der Deutschen Physikalischen Gesellschaft* (2005), Berlin, 04.-09. März.



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung und Motivation</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Plasmagrundlagen</b>	<b>4</b>
2.1	Klassifizierungen . . . . .	5
2.1.1	Vollständiges thermodynamisches Gleichgewicht . . . . .	9
2.1.2	Lokales thermodynamisches Gleichgewicht . . . . .	10
2.1.3	Nicht-Gleichgewicht . . . . .	14
2.2	Technische Plasmen . . . . .	22
2.3	Gasentladungen . . . . .	24
2.3.1	Klassische DC-Entladungen . . . . .	25
2.3.2	Entladungen in inhomogenen Feldern . . . . .	33
2.3.3	AC- und gepulste Entladungen . . . . .	39
2.4	Dielektrisch Behinderte Entladung . . . . .	43
<b>3</b>	<b>Stand der Technik</b>	<b>50</b>
<b>4</b>	<b>Stand der Forschung</b>	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>Wissenschaftliche Publikationen</b>	<b>69</b>
5.1	Einfluss einer Volumen-DBE auf den pH-Wert bei der Behandlung artifizierter Haut-Lipid-Modelle . . . . .	70
5.2	Bakterizide Wirkung und Mechanismen bei der Plasmaexposition eines nosokomialen Hautkeims durch eine Volumen-DBE	83
5.3	Antimikrobielle Wirksamkeit der Volumen-DBE bei typischen Hautkeimen unter dem Einfluss der Spannungs-Pulslänge . . .	96
5.4	Sicherheitsrelevante Prozessparameter einer Volumen-DBE für den Einsatz in dermatologischen Therapien . . . . .	107
<b>6</b>	<b>Diskussion</b>	<b>127</b>

<b>7</b>	<b>Ausblick</b>	<b>130</b>
<b>8</b>	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>131</b>
	<b>Anhang</b>	<b>156</b>
<b>A</b>	<b>Glossar</b>	<b>157</b>
<b>B</b>	<b>Eidesstattliche Erklärungen</b>	<b>161</b>
<b>C</b>	<b>Lebenslauf</b>	<b>164</b>

# Kapitel 1

## Einleitung und Motivation

Das Forschungsgebiet der Plasmamedizin ist ein relativ junger und hochgradig interdisziplinärer Bereich, der erst im Laufe der vergangenen 10 Jahre einen eigenständigen Namen erhalten hat. Die grundlegende Motivation der Forschungsaktivitäten bildet die Vision einer plasmatechnologischen Verfahrensentwicklung, auf deren Basis innovative, wirksame und anwendungssichere Geräte und Verfahren für medizinisch-therapeutische Applikationen entwickelt werden. Die Wurzeln dieses Forschungsfeldes lassen sich in den schwerpunktmäßig von mikrobiologischen Wirksamkeitsnachweisen geprägten Arbeiten der frühen 1990er Jahre finden. Durch technische und technologische Fortschritte liegt ein Schwerpunkt der modernen Plasmamedizin mittlerweile auf der Erforschung medizinisch-therapeutischer Behandlungsmethoden am lebenden Patienten. Nach wie vor wird aber auch im Bereich der Dekontamination und sogar der Sterilisation geforscht. Zunehmende Bedeutung haben in letzter Zeit plasmagestützte biofunktionale und -kompatible Beschichtungen von Implantaten sowie von medizinischem Laborbedarf erlangt.

Technisch umfasst die Plasmamedizin größtenteils bei Atmosphärendruck betriebene Plasmaquellen, deren Wechselwirkung mit biologischen Systemen geprägt ist vom simultanen Einwirken chemisch reaktiver Spezies, freier Ladungsträger und elektromagnetischer Strahlung. Die spezielle Eigenschaft von Plasmen, dass ihre Teilchenkomponenten fernab eines thermodynamischen Gleichgewichtes vorliegen können, erfüllt dabei eine grundlegende Voraussetzung für den therapeutischen Heilansatz in der Medizin. Der thermische Einfluss durch die Plasmaexposition kann somit auf ein zell- und gewebekompatibles Niveau reduziert werden, wodurch im Gegensatz zum aktuellen Stand der Plasma-Medizintechnik thermisch induzierte Effekte eine unterge-

ordnete Rolle spielen. In der Fachliteratur wurden Begriffe wie „cold atmospheric pressure plasma (CAP)“ oder auch „tissue tolerable plasma (TTP)“ ausgeprägt, die von verschiedenen Autoren synonym für die physikalisch als nicht-thermische Plasmen oder auch „low temperature plasma (LTP)“ zu klassifizierende Technologie verwendet werden.

Für die Erzeugung dieser nicht-thermischen Plasmen werden unterschiedliche technische Konzepte verwendet und spezifisch weiterentwickelt, wodurch sich inzwischen eine gewisse Technikvielfalt ausgebildet hat. Es ist zu erwarten, dass durch diesen technischen Differenzierungsgrad zukünftig ein breites Feld an medizinischen Anwendungen abgedeckt werden kann, wobei durch technische Neuentwicklungen die Liste der avisierten Applikationen stetig erweitert wird. Es zeichnet sich jedoch auch ab, dass Plasmaquellen speziell auf die Anforderungen der jeweiligen Applikation zu entwickeln sind und sich durch diesen hohen Grad an Spezialisierung vermutlich kein universelles technisches Konzept durchsetzen wird.

Die Forschungsaktivität im Bereich der Plasmamedizin war zu Beginn des Promotionsvorhabens stark von grundlagenorientierten Untersuchungen geprägt und es gab kaum gesicherte in vivo-Daten zur Wechselwirkung nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen mit biologischen Systemen. Es existierte zwar ein rudimentäres Verständnis darüber, wie einzelne Komponenten (freie Elektronen, Ionen, Radikale, (metastabil) angeregte Atome und Moleküle sowie Photonen und elektromagnetische Felder) jeweils mit Zellen und Gewebe in Wechselwirkung treten. Jedoch lassen sich diese Erkenntnisse nicht unmittelbar auf die simultan und stets unterschiedlich zusammengesetzte Applikation in Form eines Plasmas übertragen. Wichtige Gründe dafür sind unter anderem, dass die einzelnen Plasmakomponenten miteinander in komplexe Wechselwirkungen treten sowie aufgrund der multiplen Wirkkomponenten von Plasmen synergistische Effekte zu erwarten sind. Da bei der Wechselwirkung von Plasmen mit biologischen Systemen zwei für sich allein genommen bereits komplexe Systeme gekoppelt werden, ergibt sich ein vielschichtiges Wechselwirkungsspektrum, aus dem sich ein enormer Forschungsbedarf ableiten lässt.

In grundlagenorientierten Studien werden die mittelbaren und unmittelbaren Auswirkung bei der Wechselwirkung nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen mit Zellen, Gewebe und sogar dem Organismus untersucht. Anhand einer anschließenden Evaluierung im Kontext spezifischer Krankheitsbilder

erwächst eine stetig zunehmende Zahl an Indikationen<sup>\*1</sup>, bei denen der Einsatz dieser Plasmatechnologie einen vielversprechenden Nutzen in Aussicht stellt. Die Systematik der anwendungsorientierten Forschungsaktivitäten der letzten Jahre lässt sich, stark vereinfacht, wie folgt darstellen:

- Als grundlegender Schritt werden in breitgefächerten Untersuchungen Risikopotentiale für den menschlichen Organismus identifiziert und klassifiziert. Dabei reicht das Spektrum der eingesetzten Methoden vom Vergleich messtechnisch erfasster technischer Prozessparameter mit geltenden Normen und gesetzlichen Vorschriften (u.a. UV-Dosis und el. Stromfluss) über in vitro-Zellversuche\* (u.a. Zyto-\* und Genotoxizität\*) bis hin zu ex vivo\*-Untersuchungen am Tiermodell (u.a. am Biopat\*).
- Der Wirksamkeitsnachweis der Plasmabehandlung wird auf Grund der gut kontrollierbaren Bedingungen häufig ebenfalls in vitro durch zell- oder mikrobiologische Studien erbracht. Weiterführend werden Versuche an Tiermodellen durchgeführt, um die Datenbasis in vivo\* zu überprüfen.

Auf Basis des Erkenntnisgewinns, der Rückkopplung in die technische Geräteentwicklung und der daraus ableitbaren Erfolgchancen erwächst schließlich eine Datenbasis, anhand derer klinische Studien am Menschen konzipiert und initiiert werden können. Dabei ist dem klinischen Wirknachweis mit statistisch aussagekräftigen Fallzahlen oft eine anwendungs- und sicherheitsorientierte Phase der klinischen Prüfung („First-in-man“) vorgeschaltet. Zum Wohl und Schutz des Patienten sind u.a. durch die *Verordnung über klinische Prüfungen von Medizinprodukten (MPKPV)* hohe regulatorische und dokumentatorische Hürden mit der klinischen Prüfung der neuartigen, plasmabasierten Medizinprodukte verbunden. Diese Hürden können nur durch eine umfangreiche wissenschaftliche Datenbasis erfolgreich bewältigt werden.

Die Inhalte dieser Dissertation sind Teil der wissenschaftlichen Datenbasis der „Göttinger Gruppe“, die sich aus naturwissenschaftlichen, medizinischen und industriellen Partnern im Laufe der vergangenen Jahre formierte und sich primär der dermatologischen plasmamedizinischen Forschung unter Einsatz einer Volumen-DBE in Luft verschrieben hat. Diese erfolgreiche Kooperation führte schließlich zur weltweit ersten klinischen Humanstudie, bei der eine sogenannte „direkte Plasmaquelle“ zur Erzeugung des nicht-thermischen Atmosphärendruckplasmas eingesetzt wurde.

---

<sup>1</sup>Medizinische bzw. biologische Fachbegriffe sind bei ihrer ersten Nennung mit einem hochgestellten Asterisk (\*) versehen und werden im Glossar unter Anhang A erläutert.

# Kapitel 2

## Plasmagrundlagen

Der Begriff Plasma wurde in seiner heutigen physikalischen Verwendung erstmalig 1928 vom Chemiker und Physiker Irving Langmuir eingeführt, um eine Abgrenzung von weit entfernten Gasentladungsbereichen (bulk) von den durch Wechselwirkung mit Begrenzungsflächen (z.B. Elektroden, Wände) geprägten Randschichten (sheath) vornehmen zu können [1]. Dabei bezeichnet Plasma in erster Näherung einen Zustand in einem gasförmigen Vielteilchensystem, bei dem die Atome oder Moleküle teilweise oder vollständig ionisiert vorliegen.

Die meisten Effekte in einem Plasma lassen sich auf Elementareffekte zurückführen, die bereits aus Fachgebieten wie z.B. der Kern-, Atom- und Molekülphysik oder auch der Elektro- und Thermodynamik bekannt sind. Durch die Vereinigung entsprechender Modelle unter den charakteristischen Bedingungen des Plasmazustandes ergibt sich eine eigene Plasmaphysik. So kann beispielsweise der wichtigste Elementareffekt der Ionisation, welcher sich klassisch der Atom- und Molekülphysik zuordnen lässt, in thermodynamischer Interpretation durch einen Ionisations-Gleichgewichtsprozess charakterisiert werden, während er in einem kinetischen Ansatz durch einen Elektronenschwarm-Prozess beschrieben wird [2].

Der Plasmazustand wird auch als nichtklassischer Aggregatzustand klassifiziert und grenzt sich zum klassischen Gaszustand unter anderem dadurch ab, dass für eine vollständige Betrachtung neben der Neutralteilchendichte  $n_g$  zusätzlich eine Elektronendichte  $n_e$  und eine Ionendichte  $n_i$  sowie deren spezifische Temperaturen bzw. Energien berücksichtigt werden müssen. Durch diese erweiterten Freiheitsgrade weist ein Plasma gegenüber dem klassischen Gas unter anderem die folgenden, zusätzlichen Eigenschaften auf:



- Durch die Anwesenheit freier Ladungsträger lassen sich Plasmen durch elektromagnetische Felder beeinflussen und leiten elektrische Ströme.
- Auf Grund der unterschiedlichen Massen von Elektronen, Ionen und Neutralteilchen können sich die Teilchenkomponenten eines Plasmas im thermodynamischen Nicht-Gleichgewicht befinden.
- Der Energietransport in ein ansonsten inertes Gasgemisch kann eine arbeitsgasspezifische, reaktive Plasmachemie ausbilden.
- Durch Relaxation angeregter Teilchen senden Plasmen elektromagnetische Strahlung aus.

## 2.1 Klassifizierungen

Ungeachtet der auftretenden Ladungstrennung verhalten sich Plasmen im Verbund aller Teilchenkomponenten als Gesamtsystem nach außen hin elektrisch neutral. Diese als Quasineutralität bezeichnete Eigenschaft ist lediglich innerhalb einer Debye-Länge  $\lambda_D$  verletzt, welche somit als wichtige Kenngröße eines Plasmas gilt und gemäß Gleichung 2.1 neben der Elektronendichte  $n_e$  auch von der Elektronentemperatur  $T_e$  und der Iontemperatur  $T_i$  des Plasmas abhängt:

$$\lambda_D^{-2} = \frac{n_e \cdot e^2}{\epsilon_0} \left( \frac{1}{k_B T_e} + \frac{1}{k_B T_i} \right) = \lambda_{D_e}^{-2} + \lambda_{D_i}^{-2}. \quad (2.1)$$

Dabei setzt sich die Debye-Länge aus den jeweiligen Komponenten für Elektronen  $\lambda_{D_e}$  und Ionen  $\lambda_{D_i}$  zusammen. Weiterhin bezeichnen  $e$  die Elementarladung,  $\epsilon_0$  die Permittivität des Vakuums und  $k_B$  die Boltzmann-Konstante. Aus der Debye-Länge lässt sich zusammen mit der Teilchendichte  $n$  der Plasmaparameter  $N_D$  berechnen, der wie in Gleichung 2.2 dargestellt die Teilchenzahl innerhalb eines Kugelvolumens mit dem Radius  $\lambda_D$  angibt:

$$N_D = n \cdot \frac{4}{3} \pi \lambda_D^3. \quad (2.2)$$

Als wichtiger Plasmaparameter, der zur Beschreibung der Wechselwirkung mit elektromagnetischen Feldern herangezogen werden kann, sei die Plasmafrequenz  $\omega_P$  in Gleichung 2.3 genannt:

$$\omega_P = \sqrt{\frac{n_e \cdot e^2}{\epsilon_0 \cdot m_e}}. \quad (2.3)$$

Der Parameter  $\omega_P$  kennzeichnet dabei die maximale Frequenz, bis zu der das Elektronengas externen elektromagnetischen Feldern folgen kann. Für Felder höherer Frequenz erscheint das Plasma hingegen transparent.

Plasmen existieren über viele Größenordnungen hinsichtlich der Energie und Dichte ihrer Teilchen. Eine Übersicht gibt die Abbildung 2.1, in welcher der Plasmaparameter  $N_D$  zur Klassifizierung der Plasmen herangezogen wurde.

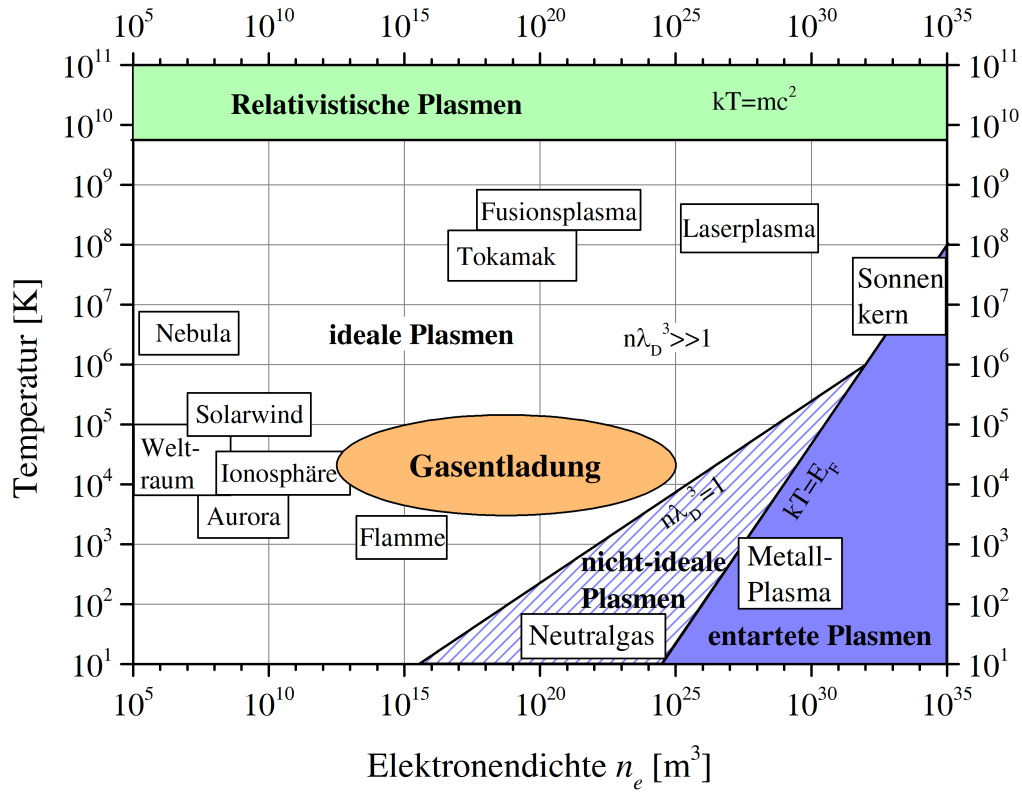


Abbildung 2.1: Klassifizierung von Plasmen entsprechend der auftretenden Teilchentemperaturen und Elektronendichten [3].

So befindet sich bei idealen Plasmen mit der Bedingung  $N_D \gg 1$  eine hohe Anzahl von Teilchen innerhalb der Debyekegel nach Gleichung 2.2, während

die Abgrenzung zu den nicht-idealen Plasmen bei Absinken der Teilchenzahl auf  $N_D = 1$  erfolgt. Darüber hinaus existieren entartete Plasmen, bei denen die Teilchenenergie im Bereich der Fermi-Energie liegt und relativistische Plasmen, bei denen die Teilchenenergie ein Niveau erreicht, bei dem der Massedefekt beginnt eine Rolle zu spielen. Zu den idealen Plasmen zählen auch Gasentladungen, denen für die technische Nutzbarmachung von Plasmen eine besondere Bedeutung zukommt. Die Eigenschaften und wesentlichen Prozesse der Gasentladungen werden im Kapitel 2.3 vertieft.

Die Tabelle 2.1 bildet (auszugsweise und im wesentlichen auf Zweikörper-Stöße beschränkt) wichtige Elementarprozesse in Plasmen ab. Dabei kommt den Elektronen-Stoßreaktionen zur Anregung von Atomen (A,B) oder Molekülen (AB) in technischen Plasmen eine besondere Rolle zu.

Tabelle 2.1: Klassifizierung der Reaktionsvorgänge in Plasmen unter Angabe ausgewählter Elementarprozesse (Auszug).

Elektronen-Stoßreaktionen	
$e + A \longrightarrow e + A^*$	Anregung
$e + AB \longrightarrow e + A + B$	Dissoziation
$e + A \longrightarrow e + e + A^+$	Ionisation
$e + AB \longrightarrow e + e + A^+ + B$	dissoziative Ionisation
$e + AB \longrightarrow AB^-$	Anlagerung
$e + AB \longrightarrow A + B^-$	dissoziative Anlagerung
$e + A^+ \longrightarrow A$	Rekombination
Schwerteilchen-Stoßreaktionen	
$A^* + B \longrightarrow AB$	Additionsreaktion
$A^* + M \longrightarrow A + M$	Quenching
$A^* + B \longrightarrow A + B^+ + e$	Penning-Ionisation
$AB^+ + AB + M \longrightarrow AB_2^+ + M$	assoziative Ionen-Umwandlung
$A^+ + B^- \longrightarrow AB$	Ionenrekombination
Photoinduzierte Reaktionen	
$A^* \longrightarrow A + h\nu$	Photo-Emission
$h\nu + A \longrightarrow A^*$	Photo-Anregung
$h\nu + A \longrightarrow A^+ + e$	Photo-Ionisation

Die Elektronen fungieren sozusagen als „Initialenergieträger“ und verteilen diese Energie im Gas durch Stöße um. Eine Vertiefung zu Elektronenstößen erfolgt im Kapitel 2.1.3. Weitere Klassen der Elementarprozesse bilden die Schwerteilchenreaktionen und photoinduzierte Prozesse, zu deren Vertiefung an dieser Stelle auf allgemeine Literatur [4] sowie Publikationen mit Schwerpunkten auf das Arbeitsgas Luft verwiesen sei [5, 6, 7].

Auf Grund von starken Vereinfachungen lassen sich in Abbildung 2.2 die wichtigsten Elementarprozesse in typische Zeitskalen einordnen und dadurch Prozessabläufe in technischen Plasmen veranschaulichen. Dabei wird deutlich, dass zur exakten Beschreibung der dynamischen Vorgänge mehr als 10 Zeit-Größenordnungen betrachtet werden müssen. Dieser Umstand führt in Kombination mit einer hohen Anzahl auftretender Spezies und vielen unterschiedlichen Reaktionspfaden und -geschwindigkeiten in einem molekularen Gasgemisch, wie z.B. Luft, zu sehr komplexen Zusammenhängen.

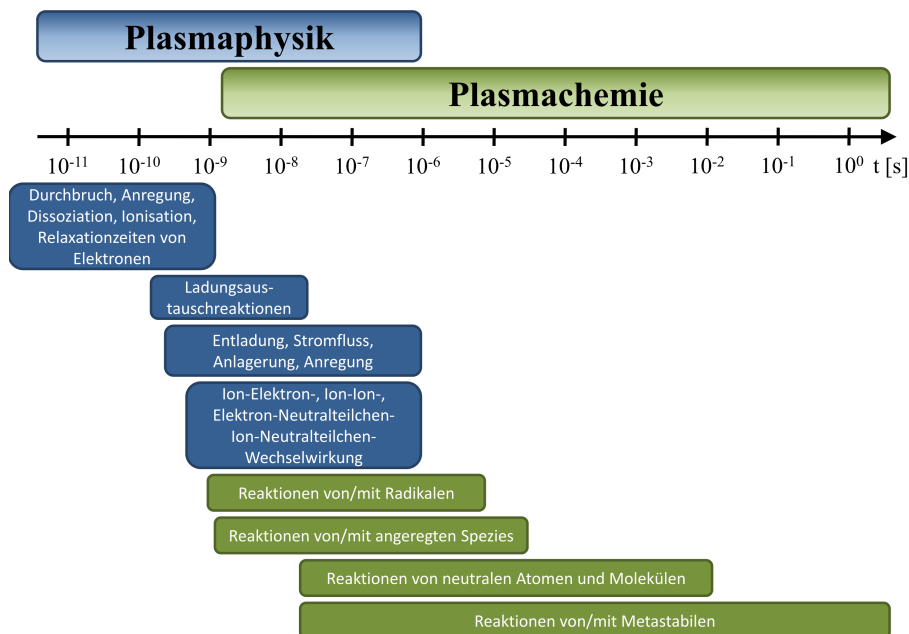


Abbildung 2.2: Chemische und physikalische Elementarprozesse sortiert anhand ihrer typischen Zeitskalen in technischen Plasmen [8].

Insbesondere bei der Erzeugung technischer Plasmen unter Einsatz von Wechselspannungssignalen kann sich häufig kein stationärer Zustand etablieren. Folglich müssen zur Beschreibung dieser Plasmen die Erzeugungs-, Transport-

und Vernichtungsprozesse orts- und zeitabhängig betrachtet werden. Dies erfolgt in der mathematischen Modellbildung in Form von teilchenspezifischen Kontinuitätsgleichungen in Kombination mit vereinfachten Transportmodellen (Drift-Diffusions-Näherung), Energieerhaltungssätzen und der Poisson-Gleichung. Aufgrund der Komplexität der Zusammenhänge müssen bereits für den relativ einfachen Fall der reinen Edelgas-Plasmen zur Lösung der Gleichungssysteme numerische Lösungsansätze verwendet werden [9].

Plasmen weisen die Besonderheit auf, dass sich die einzelnen Teilchensorten nicht zwingend im thermodynamischen Gleichgewicht befinden müssen. Vielmehr stellt die Störung dieses Gleichgewichts aufgrund von Inhomogenitäten und der geringen optischen Dichte häufig den realen Zustand in technischen Plasmen dar. Deshalb existiert ein Klassifizierungssystem, das sich an der Anwendbarkeit der thermodynamischen Modellvorstellungen zur physikalischen Beschreibung der Plasmen orientiert. Sofern sich ein Plasma vollständig oder partiell anhand seiner Parameter und dominierenden Transportmechanismen für Energie in eine der Klassen einordnen lässt, kann seine Beschreibung durch die Verwendung der thermodynamischen Formalismen zum Teil stark vereinfacht werden. Um dies zu nutzen, werden auch „verhältnismäßig heiße Plasmen“ häufig durch die thermodynamischen Modelle beschrieben [10]. Die unterschiedlichen Klassen werden in den folgenden Unterkapiteln erläutert.

### 2.1.1 Vollständiges thermodynamisches Gleichgewicht

Plasmasysteme befinden sich im vollständigen thermodynamischen Gleichgewicht, wenn sich die Temperaturen der Teilchenkomponenten, also der Elektronen  $T_e$ , der Ionen  $T_i$  und der Neutralteilchen  $T_g$ , sowie der jeweiligen Freiheitsgrade (translatorisch, rotatorisch, vibratorisch und elektronisch) entsprechen und homogen über das Plasma verteilt sind. In diesem Fall ist die thermische Energie die dominierende Energieform und prägt somit die thermodynamische Charakteristik der Plasmaphysik wie auch der -chemie aus [10]. Für diesen Fall

- lässt sich die Wahrscheinlichkeitsverteilung der translatorischen Energie aller Teilchen durch die Maxwell-Boltzmann-Verteilung beschreiben,
- ergeben sich die Besetzungsdichten von angeregten Zuständen sowie Dissoziationsgleichgewichte aus der Boltzmann-Verteilung,
- kann das Ionisationsgleichgewicht zur Bestimmung der Teilchendichten von Elektronen, Ionen und Neutralteilchen unter Verwendung der Saha-Gleichung berechnet werden,

- folgt die spektrale Dichteverteilung der elektromagnetischen Strahlung dem Planckschen Strahlungsgesetz.

Das vollständige thermodynamische Gleichgewicht herrscht in technisch erzeugten Plasmen so gut wie nicht vor und ist somit als idealisiertes Basiskonzept zu verstehen.

### 2.1.2 Lokales thermodynamisches Gleichgewicht

Der Ansatz eines lokalen thermodynamischen Gleichgewichts bietet eine realistischere Grundlage zur Beschreibung technischer Plasmen, in denen es üblicherweise zur Ausbildung von Temperatur- und Dichtegradienten kommt.

Das Konzept basiert auf der Annahme von optischen dünnen Plasmen. Dazu müssen die Raten für die Stoßanregungen sehr viel größer sein als die Raten für Linienemissionen. Man spricht in diesem Fall auch von stoßdominierten Plasmen. Dieser Zustand erlaubt die Vernachlässigung der Strahlungsanteile bei der Bewertung des Gleichgewichtszustandes, wodurch die Planckschen Strahlungsgesetze nicht mehr angewendet werden können.

Die Hin- und Rückreaktionen aller stoßgetriebenen Prozesse im Plasma müssen sich jedoch weiterhin im Gleichgewicht befinden und mit einer spezifischen, einheitlichen Temperatur beschreiben lassen. Die wesentliche Abgrenzung dieses Konzeptes gegenüber dem idealisierten Basiskonzept besteht jedoch darin, dass diese Temperatur an unterschiedlichen Orten zu unterschiedlichen Zeiten variieren darf [10]. Allerdings müssen die lokalen Gradienten (u.a. Temperatur, Dichte und thermische Leitfähigkeit) ausreichend gering sein, damit diffundierende Teilchen sich hinreichend schnell mit ihrer Umgebung thermalisieren können - die Diffusionszeiten sollten sich also mindestens in der gleichen Größenordnung bewegen wie die Thermalisierungszeiten [11].

Um tiefer in die Kriterien für das lokale thermodynamische Gleichgewicht einzusteigen, sollen zunächst die formalen Grundzusammenhänge zwischen der Elektronentemperatur  $T_e$  und der thermischen Energie der Elektronen  $E_{therm}$  erläutert werden. Die mittlere thermische Elektronenenergie  $E_{therm}$  wird in der Plasmaphysik üblicherweise in der Einheit eV ( $1 \text{ eV} = 1,6022 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ ) angegeben und gilt als wichtige Plasmakenngröße. In der Literatur werden unterschiedliche formale Zusammenhänge für die Berechnung von  $E_{therm}$  beschrieben. Ausgehend von einer Maxwell-Boltzmann-Verteilung der Elektronengeschwindigkeiten im thermodynamischen Gleichgewicht kann unter Berücksichtigung von drei Translations-Freiheitsgraden mit Hilfe der Gleichung

2.4 zwischen der Elektronentemperatur  $T_e$  und einer mittleren thermischen Energie  $E_{therm}$  umgerechnet werden<sup>2</sup> [4, 12]:

$$E_{therm} = \frac{3}{2} k_B \cdot T_e. \quad (2.4)$$

Andererseits kann aus der Energieverteilung der Elektronen nach Maxwell-Boltzmann das statistische Mittel der Elektronenenergie gemäß Gleichung 2.5 definiert werden [13, 14]:

$$E_{therm} = k_B \cdot T_e. \quad (2.5)$$

Sofern im Rahmen dieser Arbeit eine Umrechnung der Elektronentemperatur in eine mittlere Energie notwendig wird, erfolgt dies gemäß Gleichung 2.4.

Ein konkretes Konzept für die Klassifizierung eines Plasmas in das lokale thermische Gleichgewicht setzt bei dem Umstand an, dass in technischen Plasmen den Stoßereignissen zwischen Elektronen und den deutlich schwereren Ionen und Neutralteilchen eine wesentliche Rolle bei der Umverteilung von Energie zukommt. Die freie Weglänge von Elektronen  $\lambda_e$  bietet folglich einen plausiblen Startpunkt für die Dimensionierung eines Volumens, innerhalb dessen eine konstante Temperatur angenommen werden darf [15]. Den formalen Zusammenhang der mittleren freien Weglänge von Elektronen mit der Neutralteilchendichte  $n_g$  und dem gasspezifischen Wirkungsquerschnitt  $\sigma$  gibt Gleichung 2.6 an:

$$\lambda_e = \frac{1}{n_g \cdot \sigma}. \quad (2.6)$$

Davon ausgehend, dass sich die lokale Temperatur zwischen zwei aufeinanderfolgenden Elektronenstößen nicht signifikant ändert, lässt sich die Relation gemäß 2.7 aufstellen:

---

<sup>2</sup>Elektronen folgen in Nicht-Gleichgewichtsplasmen nicht zwingend einer Maxwell-Boltzmann-Verteilung - trotzdem wird diese Annahme häufig getroffen, um mittels Gleichung 2.4 zwischen den Energieformen umrechnen zu können [4].

$$\lambda_e \nabla T \ll T. \quad (2.7)$$

Am Beispiel eines Quecksilber-Plasmas innerhalb einer Hochdrucklampe ( $p = 4$  MPa) beträgt  $\lambda_e \approx 10$  nm, während typische Temperaturgradienten von etwa  $5 \cdot 10^6$  K/m auftreten [15]. Für ein Elektron ändert sich die Temperatur zwischen zwei Stößen entlang des Gradienten um nur 0,05 K, womit die Bedingung aus 2.7 erfüllt ist.

Um die Gleichgewichtsbedingung zu erfüllen, muss entlang der freien Weglänge  $\lambda_e$  noch eine weitere Bedingung eingehalten werden. Bei identischer Ausrichtung des Feld- und Geschwindigkeitsvektors kann der Energiezuwachs eines Elektrons in einem elektrischen Feld  $\vec{E}$  durch  $E_{kin} \approx \lambda_e e E$  angenähert werden. Nun kann der Betrag der im  $\vec{E}$ -Feld gewonnenen Elektronenenergie ins Verhältnis zum thermischen Anteil gesetzt werden. Um die Gleichgewichtsbedingung zu erfüllen, muss entsprechend der Relation 2.8 die thermische Energiekomponente dominieren:

$$\lambda_e \cdot e \cdot E \ll \frac{3}{2} k_B \cdot T_e. \quad (2.8)$$

Typische Feldstärken in den bereits erwähnten Hochdrucklampen betragen 1 – 60 kV/m. Bei diesen Feldstärken beträgt der Energiezuwachs aus dem Feld lediglich  $10^{-5} - 6 \cdot 10^{-4}$  eV. In Relation zu typischen Plasmatemperaturen der Lampe von 4000-7000 K, was unter Verwendung von Gleichung 2.4 Werten von 0,5-0,9 eV entspricht, ist der Energiezuwachs durch die Beschleunigung im Feld zwischen zwei Stößen vernachlässigbar [15].

Von verschiedenen Autoren wurden weitere Kriterien (u.a. bzgl. der Elektronendichte) publiziert, anhand derer für die spektrale Analyse der Plasmen ein lokales Gleichgewicht angenommen werden kann [16, 17, 18]. Darüber hinaus existieren Sub-Gruppen des lokalen thermodynamischen Gleichgewichtes. So wird z.B. bei der Beschreibung eines partiellen lokalen thermodynamischen Gleichgewichtes der Grundzustand bei allen Betrachtungen ignoriert. Die Energiedifferenzen innerhalb der angeregten Zustände (insbesondere von Edelgasen) sind deutlich geringer als die benötigte Energie, um vom Grundzustand auf das erste Niveau anzuregen - sie unterscheiden sich in grober Näherung um eine Größenordnung. Deshalb wird angenommen, dass sich alle Energieniveaus mit Ausnahme des Grundzustandes im Gleichgewicht mit den Elektronen befinden, wodurch die Elektronentemperatur  $T_e$  der Anregungstemperatur  $T_{exc}$  der betrachteten Zustände entspricht. Beim partiellen



lokalen Saha-Gleichgewicht geht man davon aus, dass lediglich die Zustände direkt unterhalb der Ionisierungsgrenze mit den freien Elektronen thermalisiert sind.

Von grundlegender physikalischer Bedeutung für den Energieaustausch und damit für die Thermalisierung der einzelnen Plasmaspezies ist die mittlere Stoßfrequenz der jeweiligen Teilchen. Die mittlere Stoßfrequenz  $\nu$  lässt sich aus dem Verhältnis von Gesamtgeschwindigkeit  $v$  und der zurückgelegten Strecke zwischen zwei Stößen bestimmen und ist damit eine Funktion des Gasdrucks. Unter Verwendung von 2.6 ergibt sich Gleichung 2.9 für die mittlere Stoßfrequenz:

$$\nu = v \cdot n_g \cdot \sigma = (v_{\text{thermisch}} + v_{\text{Drift}}) \cdot n_g \cdot \sigma. \quad (2.9)$$

Bei einem einzelnen Stoß eines Elektrons mit einem Schwerteilchen wird zwar nur sehr wenig Energie übertragen (vgl. Kapitel 2.1.3), bei ausreichender Energieversorgung kann aufgrund der hohen mittleren Stoßfrequenz dennoch die Energie relativ effizient umverteilt werden. Bei geringer Teilchendichte ist es für ein Plasmasystem demnach schwieriger, sich in Richtung eines thermodynamischen Gleichgewichts zu entwickeln. Unter stationären Bedingungen können sich dadurch die Temperaturen des Elektronengases und des Neutralgases in Niederdruck-Entladungen zum Teil um mehrere Größenordnungen unterscheiden, während sich die Elektronentemperatur  $T_e$  und Neutralgastemperatur  $T_g$  bei hohen Gasdrücken aufgrund der effizienteren Thermalisierung angleichen.

Anhand von Abbildung 2.3 lässt sich anschaulich der Einfluss des Gasdrucks auf das thermodynamische Gleichgewicht eines Plasmas illustrieren. Bei einer ausreichenden Energiezufuhr und genügend Zeit kann sich bei Atmosphärendruck zwischen zwei metallischen Elektroden ein Plasma mit hohen Gastemperaturen in Form einer Funken- oder Bogenentladung (vgl. Kapitel 2.3) ausbilden. Die Wechselwirkung solcher Plasmen mit Materie führt überwiegend zur thermischen Zersetzung chemischer Verbindungen (Plasmapyrolyse) [2]. Damit verfügen diese Plasmen, die aufgrund ihrer Wechselwirkungsmechanismen auch als thermische Plasmen bezeichnet werden, nur über begrenzte medizinisch-therapeutische Einsatzmöglichkeiten. Zugleich bilden sie die technologische Basis der bislang einzigen flächendeckend an Patienten eingesetzten Plasma-Medizinprodukte mit Anwendungen im Bereich der Chirurgie (vgl. Kapitel 3.)

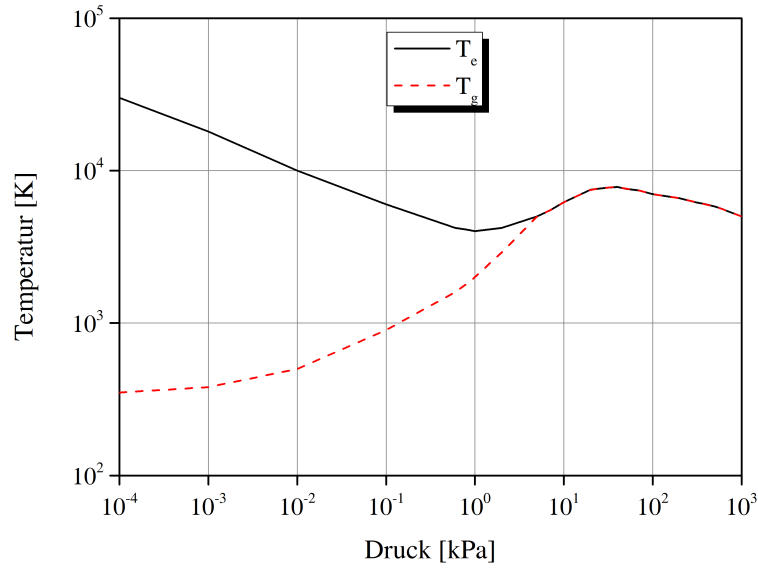


Abbildung 2.3: Übliche Charakteristik der Elektronentemperatur  $T_e$  und der Gastemperatur  $T_g$  in einer Bogenentladung als Funktion des Gasdrucks [19].

### 2.1.3 Nicht-Gleichgewicht

Für technische Anwendungen von besonderer Bedeutung sind Plasmen, die lediglich einen geringen bis moderaten thermischen Einfluss auf Materie ausüben. In der Terminologie haben sich Begriffe wie Niedertemperatur-Plasma oder nicht-thermisches Plasma durchgesetzt. Die Plasmakomponenten befinden sich dabei allerdings soweit entfernt von einem thermischen Gleichgewichtszustand, dass zu ihrer korrekten Beschreibung weitgehend auf die thermodynamischen Beziehungen verzichtet werden muss. Die Charakterisierung dieser Plasmen wird dadurch deutlich aufwendiger. Im Rahmen dieser Arbeit wie auch bei der Mehrzahl der plasmamedizinischen Studien weltweit werden Plasmen eingesetzt, die sich dieser Klasse zuordnen lassen.

Wie in den meisten technisch erzeugten Plasmen dienen auch hierbei elektrische Felder als Energiequelle. Während das Neutralgas unbeeinflusst bleibt, werden geladene Teilchen in elektrischen Feldern der Amplitude  $\vec{E}$  aufgrund der elektromagnetischen Wechselwirkung auf eine Driftgeschwindigkeit  $\vec{v}_D$  beschleunigt, die gemäß Gleichung 2.10 von der Mobilität  $\mu$  des Ladungsträgers in seinem jeweiligen, stoßbestimmten Umfeld abhängig ist:

$$\vec{v}_D = \mu \cdot \vec{E}. \quad (2.10)$$

Bei der Stoß-Wechselwirkung von Gasteilchen müssen die Momenten- und Energie-Erhaltungssätze stets erfüllt sein. Für unterschiedliche Gasteilchen A und B sowie beispielhaft für Geschwindigkeiten  $v_1 \gg v_2$  lassen sich diese Stöße wie folgt klassifizieren [20]:

- elastische Stöße:  $A_{v_1} + B_{v_2} \rightarrow A_{v_1-x} + B_{v_2+x}$   
Die Teilchenmomente der Stoßpartner werden umverteilt; die gesamte kinetische Energie der Teilchen bleibt unverändert.
- inelastische Stöße: z.B.  $A_{v_1} + B \rightarrow A_{v_1-x} + B^*$   
Die Teilchenmomente werden umverteilt; ein Teil der kinetischen Energie wird in Anregungsenergie umgewandelt.
- superelastische Stöße: z.B.  $A_{v_2}^* + B_{v_2} \rightarrow A_{v_2+x} + B_{v_2+x}$   
Die Teilchenmomente bleiben erhalten; Anregungsenergie wird beim Stoß u.a. in kinetische Energie umgewandelt.

Durch die Geschwindigkeitszunahme in Form einer Drift-Komponente gewinnen sowohl Elektronen als auch Ionen an kinetischer Energie. In Form von elastischen Stößen übertragen Ionen diese Energie ausgesprochen effizient auf Neutralteilchen, da das Verhältnis aus Ionenmasse  $m_i$  und Neutralteilchenmasse  $m_g$  mit  $m_i/m_g \approx 1$  den Austausch kinetischer Energie begünstigt. Während die Ionen einen substantiellen Teil ihrer zunächst aus dem  $\vec{E}$ -Feld gewonnenen Energie als Wärmeenergie ins Neutralgas abgeben, verlieren die Elektronen bei elastischen Stößen mit Schwerteilchen nur geringe Anteile. Aufgrund der geringen Elektronenmasse  $m_e$  ergibt sich am Beispiel von  $N_2$  ein ungünstiges Masseverhältnis für den relativen Energieübertrag zu  $\Delta E/\varepsilon \approx 4m_e/m_{N_2} = 8 \cdot 10^{-5}$ .

Aus diesem Grund weisen die Elektronen während der Plasmaentstehung stets eine deutlich höhere Temperatur auf als die Schwerteilchen (Ionen und Neutralgas) [15]. Innerhalb der sich an die Zündung des Plasmas anschließenden Phase können sich die Temperaturen des Elektronengases und des Neutralgases durch viele Stöße (Joule'sche Erwärmung) sukzessive annähern und schließlich thermalisieren. Die Ausbildung dieses thermodynamischen Gleichgewichtes wird jedoch nach [4] unterbunden, wenn

- die zur Verfügung stehende Zeit oder Energie nicht ausreicht, um eine Thermalisierung aller Spezies herbeizuführen (u.a. Corona-Entladungen, gepulste (Niederdruck-)Entladungen),
- oder ein Kühlmechanismus die Aufheizung des gesamten Gasvolumens verhindert (u.a. gekühlte Elektroden oder Rezipienten).

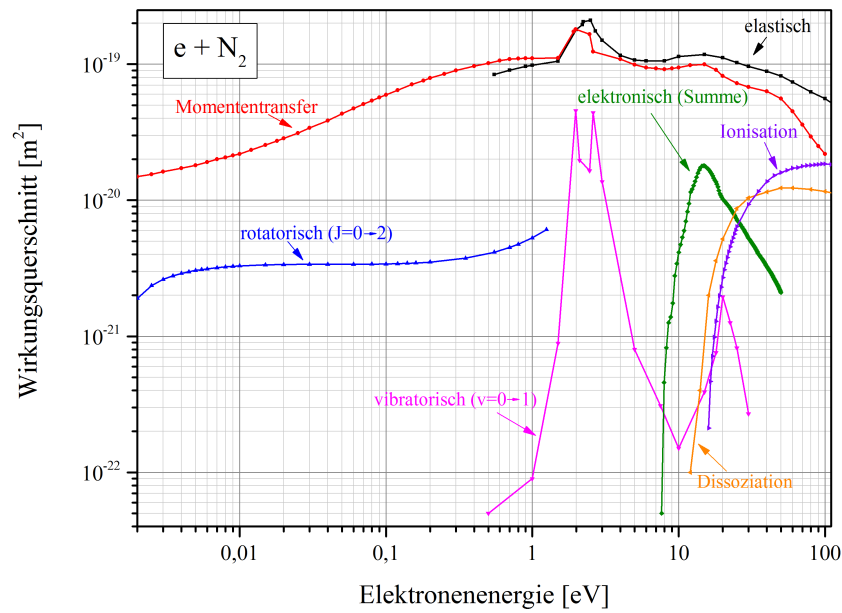
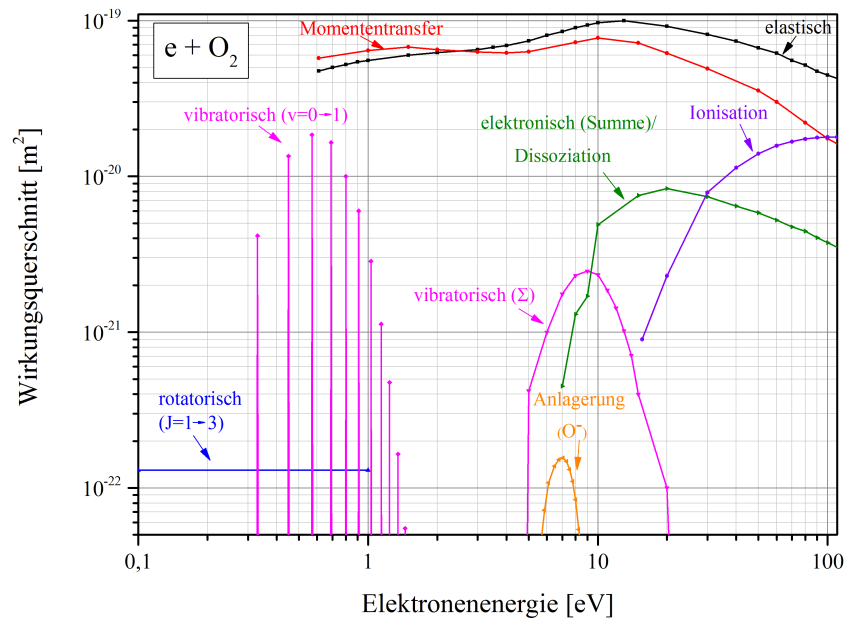
Entsprechend der zur Verfügung stehenden Freiheitsgrade des Stoßpartners führen inelastische Stöße von Elektronen mit Schwerteilchen zu rotatorischer, vibratorischer und elektronischer Anregung sowie zur Dissoziation und Ionisation von Gasteilchen. Bei elektronegativen Gasen (u.a.  $\text{SF}_6$ ,  $\text{O}_2$ ) kann es auch zur Anlagerung (Attachment) von Elektronen an die Schwerteilchen kommen, wodurch sich negative Ionen ausbilden. Elektronen übertragen den überwiegenden Anteil ihrer Energie durch inelastische Stößen mit Schwerteilchen, wodurch der Energieverteilungsfunktion der Elektronen eine elementare Bedeutung bei der quantitativen Analyse von Plasmen zukommt.

Während der feldfreien Phasen gepulster Entladungen oder in den feldarmen Räumen des Effluents (Abgas) eines geströmten Jet-Systems wird Energie im Gas vornehmlich durch superelastische Stöße umverteilt. Hierbei wird die in angeregten und metastabilen Zuständen gespeicherte Energie von Teilchen auf den Stoßpartner übertragen, wodurch unter anderem Ionisationseffekte (Penning-Ionisation) auftreten können [21]. Superelastische Stöße bilden darüber hinaus den Mechanismus für den Umkehrprozess des Energieverlustes der Elektronen nach inelastischen Stößen.

Wenn diese Hin- und Rückprozesse nicht hinreichend bilanziert sind und im Vergleich zu elastischen Stößen relativ häufig auftreten, weist die Energieverteilungsfunktion  $f_e$  der Elektronen erhebliche Abweichungen von der Maxwell-Verteilung des thermodynamischen Gleichgewichts auf. Bei nicht-thermischen Plasmen muss deshalb die Boltzmann-Gleichung zur Berechnung der Energieverteilungsfunktion gelöst werden [22]. Zur Abgrenzung wird den Elektronen dabei an Stelle einer Temperatur eine mittlere Energie zugeordnet (vgl. Gleichung 2.8). Im Einfluss elektrischer Felder  $\vec{E}$  nimmt die Boltzmann-Gleichung für Elektronen die in Gleichung 2.11 dargestellte Form an:

$$\frac{\partial f_e}{\partial t} + \vec{v} \cdot \nabla f_e + \frac{e}{m_e} \vec{E} \cdot \nabla_v f_e = \left( \frac{\partial f}{\partial t} \right)_{st}. \quad (2.11)$$

Die linke Seite der Gleichung beschreibt das zeit- und ortsabhängige Verhalten der Verteilungsfunktion und beinhaltet die Geschwindigkeitskoordinaten  $\vec{v}$  und den Quellterm, während auf der rechten Seite der Gleichung ein Kollisionsterm (Senke) aufgeführt ist. Dieser Kollisionsterm setzt sich aus den gas- und prozessspezifischen Wirkungsquerschnitten für die Stoßwechselwirkung der betrachteten Teilchen mit Elektronen zusammen, die als Literaturwerte verfügbar sind. Beispielhaft für die Hauptkomponenten der Luft sind die

Abbildung 2.4: Wirkungsquerschnitte  $\sigma$  für Stöße von Elektronen mit  $\text{N}_2$  [23].Abbildung 2.5: Wirkungsquerschnitte  $\sigma$  für Stöße von Elektronen mit  $\text{O}_2$  [24].

Elektronenstoß-Wirkungsquerschnitte für  $N_2$  in Abbildung 2.4 und für  $O_2$  vereinfacht in Abbildung 2.5 dargestellt.

In Atmosphärendruckplasmen betragen die Zeitkonstanten für Veränderungen des elektrischen Feldes durch Raumladungsansammlung ungefähr  $10^{-9}$  s. Die Relaxationszeit der Elektronen liegt für diesen Druck bei ca.  $10^{-11}$  s, wodurch die Elektronen jederzeit dem elektrischen Feld folgen können, ohne dass ihr Verteilungsgleichgewicht dadurch gestört wird. Damit dürfen für die Beschreibung von Elektronen die Felder als konstant betrachtet werden, was die Nutzung der stationären und homogenen Boltzmann-Gleichung bei Atmosphärendruckplasmen erlaubt [25]. Diese ist in Gleichung 2.12 dargestellt:

$$\frac{e}{m_e} \vec{E} \cdot \nabla_v f_e = \left( \frac{\partial f}{\partial t} \right)_{st}. \quad (2.12)$$

Zur Lösung der Boltzmann-Gleichung stehen leistungsstarke numerische Solver wie z.B. BOLSIG<sup>+</sup> zur Verfügung. Die Ergebnisse dieses Codes verfügen in schwach ionisierten Plasmen über eine hinreichende Güte [26, 27]. Der Code liefert für ein Gas(-gemisch) mit konstanten Randbedingungen (Gastemperatur, Ionisationsgrad, Elektronendichte und reduzierte elektrische Feldstärke) die Transportkoeffizienten  $\mu_e$  und  $D_e$  sowie die Elektronen-Geschwindigkeitsverteilungsfunktion (EVDF)  $f_e$ , indem auf Basis selbstkonsistenter Sätze für die Wirkungsquerschnitte des betrachteten Gases der Stoßterm mit der elektrischen Feldstärke in einer Zwei-Term-Näherung aus Drift und Diffusion bilanziert wird [27]. In der Plasmaphysik wird häufig die reduzierte elektrische Feldstärke  $E/N$  verwendet, bei der das elektrische Feld  $E$  per Division durch die Teilchendichte  $N$  um eine druckabhängige Komponente erweitert wird. Als Einheit ist das Townsend mit  $1 \text{ Td} = 1 \cdot 10^{-17} \text{ Vcm}^2$  definiert. Somit ermöglicht diese Größe die universelle Verwendung von Feldstärkeangaben unabhängig vom Druckbereich des betrachteten Plasmas. Für Plasmen im Arbeitsgas Luft sind in Abbildung 2.6 Elektronen-Geschwindigkeitsverteilungsfunktionen für verschiedene reduzierte elektrische Feldstärken  $E/N$  aufgetragen.

Anhand des Gasdurchbruchs in Luft bei Feldstärken von  $20\text{-}30 \text{ kVcm}^{-1}$  lassen sich für Normalbedingungen mindestens reduzierte elektrische Feldstärken von  $75\text{-}110 \text{ Td}$  abschätzen [28]. Nach Abbildung 2.6 treten im Gas unter diesen Bedingungen bereits Elektronen mit Energien von einigen  $10 \text{ eV}$  auf - wenn auch in vergleichsweise geringem Umfang. Der relative Anteil der Elektronen, die sich im höherenergetischen Bereich (high energy tail) der Verteilung befinden, steigt mit zunehmender Feldstärke an. Durch die Ausbildung

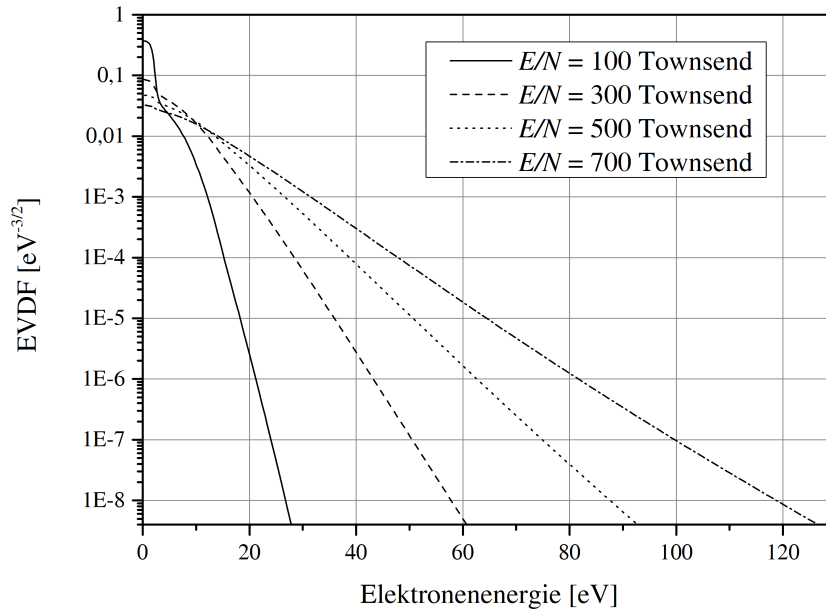


Abbildung 2.6: Mit BOLSIG<sup>+</sup>(v1.2) berechnete EVDF in Luft für verschiedene reduzierte Feldstärken mit den Randbedingungen:  $n_{\text{N}_2}$ : 0.78,  $n_{\text{O}_2}$ : 0.22, Gastemperatur: 350 K, Ionisationsgrad:  $1 \cdot 10^{-6}$ , Elektronendichte:  $5 \cdot 10^{19} \text{ m}^{-3}$ .

von Raumladungszonen oder den Betrieb mit Wechselspannung (vgl. Kapitel 2.3) kann es zu Feldstärkeüberhöhungen kommen, wodurch in Luftplasmen bei atmosphärischem Druck Werte bis einige hundert Townsend auftreten.

Aus der normalisierten Verteilungsfunktion  $f_0$  lässt sich durch Integration über den gesamten Energieraum eine Energiedichte  $n_\epsilon$  im Gasvolumen der Teilchendichte  $n_g$  bestimmen. Die mittlere Elektronenenergie  $\bar{\epsilon}_e$  kann hierbei gemäß Gleichung 2.13 als Quotient aus Energiedichte und Neutralteilchendichte definiert werden [27]:

$$\bar{\epsilon}_e = \frac{n_\epsilon}{n_g}. \quad (2.13)$$

Für unterschiedliche Arbeitsgase ist die mittlere Elektronenenergie  $\bar{\epsilon}_e$  in Abbildung 2.7 als Funktion der reduzierten elektrischen Feldstärke aufgetragen. Anhand der Übersicht lässt sich verdeutlichen, dass unterhalb von ca. 400 Td die Wahl des Arbeitsgases einen entscheidenden Einfluss auf die energetischen

Eigenschaften von Plasmen hat. Helium nimmt im Vergleich zu den anderen Gasen eine Sonderstellung ein, weil sich besonders hohe Werte für  $\bar{\varepsilon}_e$  erzielen lassen. Da seine Beimischung in ein vorhandenes Gas meist zu einer Erhöhung der mittleren Elektronenenergie führt, ist Helium eine populäre Komponente in technischen Gasgemischen für die Plasmaerzeugung.

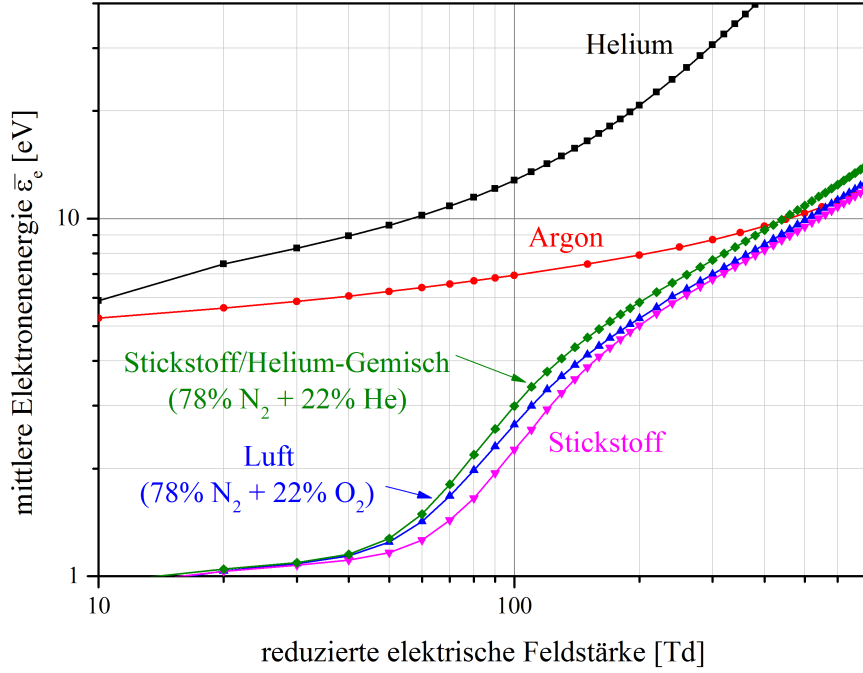


Abbildung 2.7: Unter Verwendung von BOLSIG<sup>+</sup> berechneter Zusammenhang zwischen der mittleren Elektronenenergie  $\bar{\varepsilon}_e$  und der reduzierten elektrischen Feldstärke  $E/N$  für verschiedene Arbeitsgase und Gasgemische. Randbedingungen: Gastemperatur: 300 K, Ionisationsgrad:  $1 \cdot 10^{-6}$  und Elektrodendichte:  $5 \cdot 10^{19} \text{ m}^{-3}$ .

Durch die Faltung der EVDF  $f_e$  mit den jeweiligen Wirkungsquerschnitten  $\sigma_{(e)}$  der betrachteten Prozesse in einem Gas lassen sich spezifische Ratenkonstanten  $k_i$  für elementare Prozesse  $i$  (u.a. elektronische Anregung, Dissoziation oder Ionisation) bestimmen. Der formale Zusammenhang ist in Gleichung 2.14 angegeben:

$$k_{i(e)} = \int_{E_{thr}}^{\infty} \sigma_{i(e)} \cdot \sqrt{\frac{2e}{m_e}} \cdot \varepsilon_e \cdot f_{e(e)} d\varepsilon \quad (2.14)$$



mit

$$\int_{E_{thr}}^{\infty} f_e(\epsilon) \sqrt{\epsilon} d\epsilon = n_e. \quad (2.15)$$

Die Ratenkonstanten lassen sich u.a. dazu nutzen, einen Überblick über die relative Verteilung der in das Plasma eingekoppelten Leistung zu generieren. Wenn die Ratenkonstanten multipliziert mit dem prozessspezifischen Energieaufwand gemäß Abbildung 2.8 über der mittleren Elektronenenergie  $\bar{\epsilon}_e$  aufgetragen werden, können die effizientesten Vorgänge im Plasma bereits durch Kenntnis der mittleren Elektronenenergie identifiziert werden. Darüber hinaus lassen sich aus solchen Übersichten wertvolle Erkenntnisse für die Prozesskontrolle und -entwicklung gewinnen.

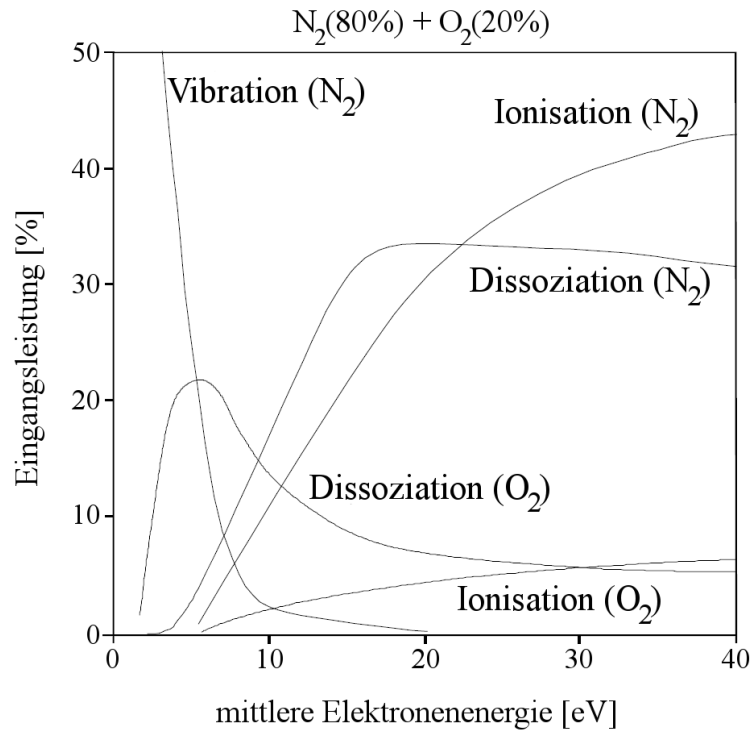


Abbildung 2.8: Prozentuale Verteilung der elektrischen Eingangsleistung auf Elektronenstöße, die zur vibratorischen Anregung sowie Dissoziation und Ionisation von  $N_2$  und  $O_2$  führen [29].

## 2.2 Technische Plasmen

Um den Plasmazustand zu erzeugen und aufrecht zu erhalten muss einem Gas stetig Energie zugeführt werden. Dies erfolgt in der technischen Nutzbarmachung durch unterschiedliche Gasentladungskonzepte. Den Ausgangspunkt einer selbstständigen Gasentladung bilden die durch kosmische Strahlung oder natürliche Radioaktivität stets vorhandenen freien Ladungsträger (Initialladungsträger). Deren stationäre Konzentration beträgt in bodennahen Schichten ungefähr  $10^9 \text{ m}^{-3}$  [30]. Ihnen kann durch die technische Erzeugung elektrischer Felder Energie zugeführt werden, welche durch Stoßprozesse im Gas umverteilt wird. Dabei wird in der Plasmatechnologie häufig zwischen den Anregungskonzepten „inductively coupled plasma“ (ICP) und „capacitively coupled plasma“ (CCP) unterschieden. Bei einem ICP entsteht durch einen zeitveränderlichen Strom in einer planaren oder zylindrischen Spule primär ein magnetisches Feld, welches entsprechend des Faraday'schen Induktionsgesetzes ein azimuthales elektrisches Wirbelfeld erzeugt, in dem die freien Ladungsträger beschleunigt werden. Die elektrische Feldstärke  $\vec{E}$  verhält sich dabei proportional zur Frequenz des  $\vec{B}$ -Feldes. Im Gegensatz dazu wird bei CCPs das Plasma direkt im  $\vec{E}$ -Feld eines elektrischen Potentials mit hoher Amplitude zwischen zwei Elektroden erzeugt. Die unterschiedlichen Anregungskonzepte haben zur Folge, dass sich durch ICPs bei moderaten bis hohen Drücken das Plasma üblicherweise im thermodynamischen Gleichgewicht ausbildet, während sich mit CCPs unter diesen Bedingungen auch nicht-thermische Plasmen erzeugen lassen [4].

Bei technischen Plasmen kommt es im Gegensatz zu natürlichen Plasmen aufgrund der endlichen räumlichen Dimensionen zur Wechselwirkung der freien Ladungsträger mit Oberflächen von Elektroden oder volumenbegrenzenden Wänden. Dies kann zu erhöhten Rekombinationsraten der Elektronen gegenüber den Ionen und somit zur Ausbildung von Randzonen, dem sogenannten „sheath“, führen. In dieser Randzone ist das Ladungsträgergleichgewicht gestört, wodurch das resultierende  $\vec{E}$ -Feld positiv geladene Ionen in Richtung der Oberflächen beschleunigen kann [31].

Eine Übersicht über die verschiedenen Arten von Gasentladungen gibt die Abbildung 2.9. Dabei ist zu erkennen, dass nur wenige Konzepte für den Betrieb bei Atmosphärendruck geeignet sind. Zu ihnen gehören in der Reihenfolge zunehmender Ladungsdichten die Corona-Entladung, mikrowellenangeregte Plasmen, Plasma Display Panels (PDP), Bogenentladungen, Dielektrisch Behinderte Entladungen und Hochdrucklampen.

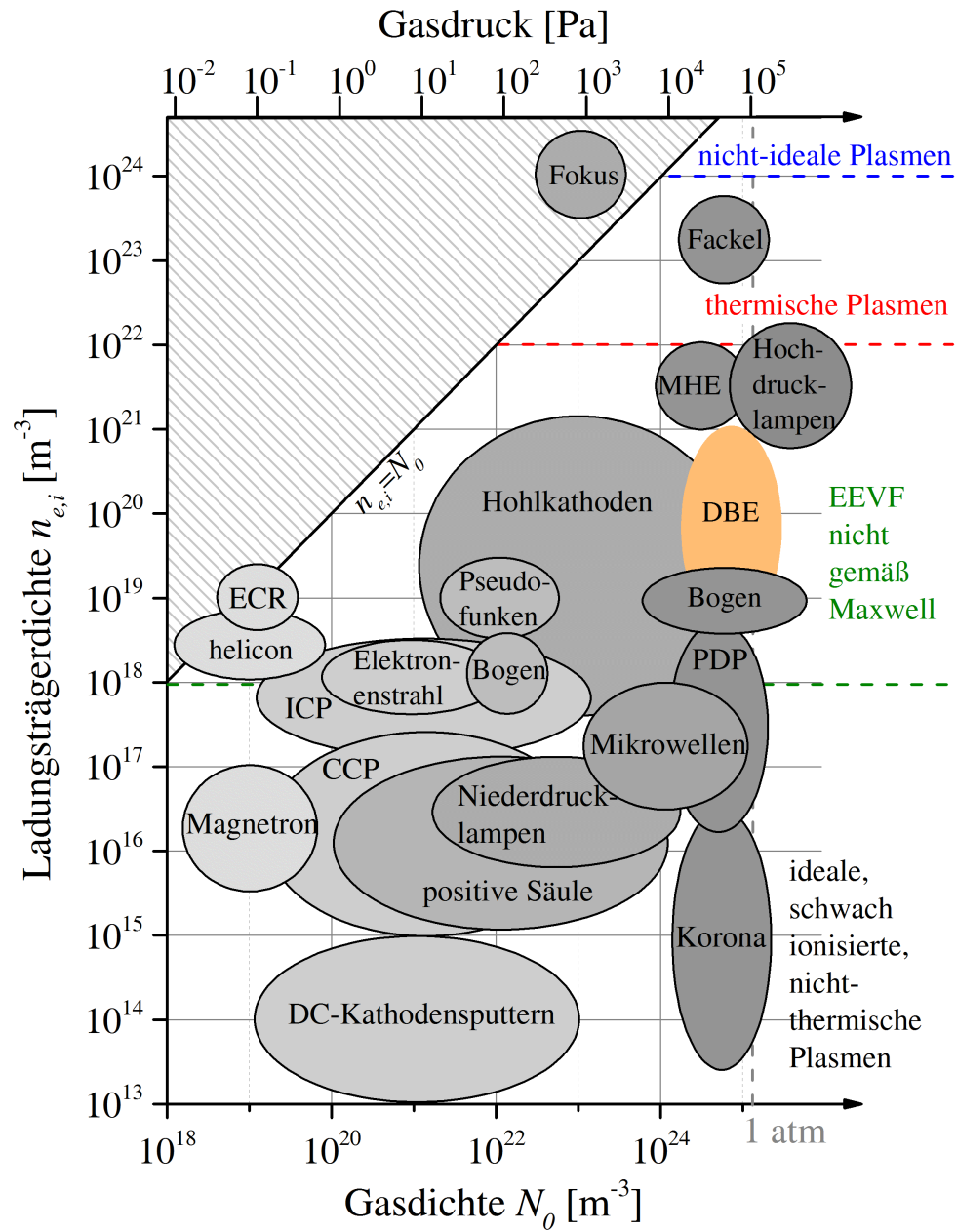


Abbildung 2.9: Einordnung unterschiedlicher Gasentladungen anhand ihrer Ladungsträgerdichten in üblichen Druckregimen [32].

## 2.3 Gasentladungen

Als Gasentladung wird die Gesamtheit der Phänomene des elektrischen Stromflusses in einem Gas bezeichnet [2]. Die dafür benötigten freien Ladungsträger können prinzipiell durch Photoionisation, Thermoionisation oder Stoßionisation erzeugt werden [30]. Unter bestimmten experimentellen Beanspruchungsbedingungen, die unter anderem Systemparameter wie Gasart, Druck, Elektrodengeometrie und -material sowie den elektrischen Widerstand des gesamten Schaltungssystems umfassen, treten zwischen den Elektroden charakteristische Entladungserscheinungen auf, die durch eine starke Nichtlinearität des Zusammenhangs zwischen Strom und Spannung gekennzeichnet sind. In einem elektrotechnischen Ansatz lassen sich die Entladungserscheinungen anhand der Leitfähigkeit des Elektrodenzwischenraums und der elektrischen Spannung in Vorentladungen und Durchschlag unterteilen. Während sich bei einer Vorentladung die bei der Zündung des Gases auftretenden Ionisationsvorgänge nicht oder nur gering auf die elektrische Spannung über der Gasstrecke auswirkt, bildet sich beim Durchschlag ein leitfähiger Kanal zwischen den Elektroden aus, sodass das elektrische Potentialniveau zum Zeitpunkt der Zündung nicht weiter aufrecht erhalten werden kann [33].

Die Erscheinungsformen von Gasentladungen sind äußerst vielfältig, weshalb im Rahmen dieser Arbeit lediglich Grundzusammenhänge und relevante Mechanismen zum Verständnis der tatsächlich eingesetzten Gasentladungstypen erläutert werden. Für eine umfassendere Beschreibung von Gasentladungen sei an dieser Stelle auf das Standardwerk von Y.P. Raizer verwiesen [34].

Um die grundlegenden Prozesse und Eigenschaften von Gasentladungen zu verdeutlichen, wird zunächst die relativ anschauliche Betriebsart mit Gleichspannung (DC) innerhalb überwiegend homogener Grundfelder in Kapitel 2.3.1 betrachtet. Darüber hinaus treten bei inhomogenen Feldbedingungen spezielle Entladungsmechanismen und technisch relevante Entladungsformen auf, die in Kapitel 2.3.2 erläutert werden. Bei dem Betrieb mit Wechselspannung (AC) und besonders im gepulsten Betrieb (Stoßspannung) können spezifische Effekte auftreten, da die Signalcharakteristik sich als zusätzlicher Systemparameter auf die Entladungseigenschaften auswirkt. Dieser Betriebsmodus ist technisch und auch im Rahmen dieser Arbeit von besonderer Relevanz und wird in Kapitel 2.3.3 detaillierter beschrieben.

### 2.3.1 Klassische DC-Entladungen

In Abbildung 2.10 lassen sich die klassischen DC-Gasentladungen anhand einer U-I-Kennlinie voneinander abgrenzen. Die absoluten Werte in solchen Kennlinien sind abhängig von der jeweiligen Entladungsgeometrie. Neben unselbstständigen und selbstständigen Entladungsformen können Entladungen anhand des Einflusses von Raumladungszonen unterschieden werden.

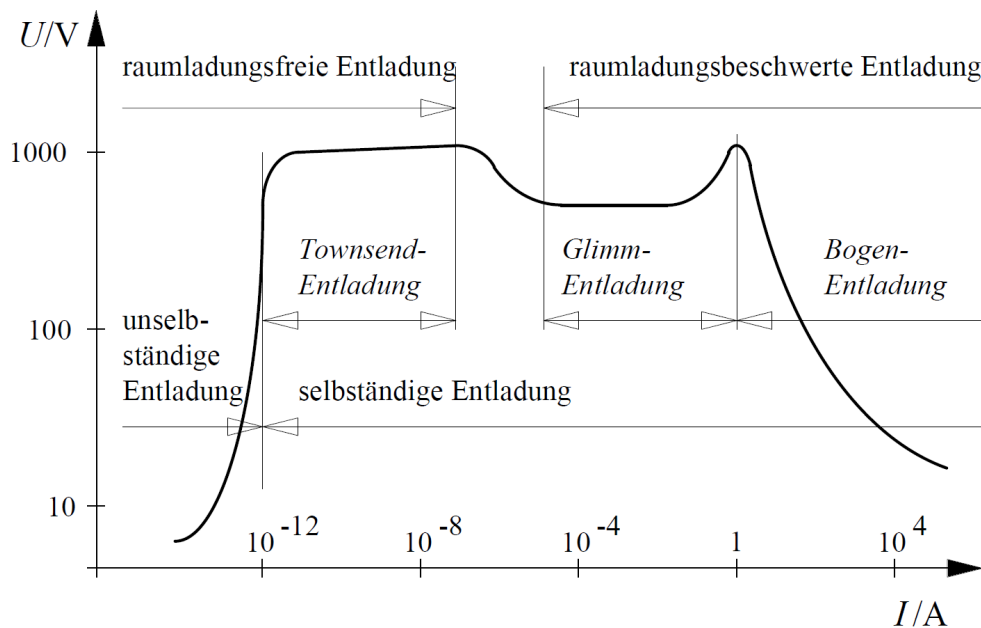


Abbildung 2.10: Klassifizierung von Gasentladungen in unselbstständige und selbstständige sowie raumladungsfreie und raumladungsbeschwerte Entladungen anhand einer schematisch gewählten U-I-Kennlinie [33].

Unselbstständige Entladungen treten bei relativ geringen elektrischen Feldstärken auf, wobei die freien Ladungsträger ausschließlich durch Photo- bzw. Thermoionisation unter Verwendung externer Energiequellen erzeugt werden. Dabei steigt mit zunehmender Spannung bzw. Feldstärke der Strom zunächst monoton an, bis schließlich ein Sättigungseffekt eintritt<sup>3</sup>. Dabei werden durch das elektrische Feld alle freien Ladungsträger aus dem Gasraum abgezogen bevor sie rekombinieren können. Ein Stromanstieg kann nur erfolgen, wenn weitere freie Ladungsträger, z.B. durch einen zusätzlichen Ionisationsmechanismus, zur Verfügung gestellt werden [33].

<sup>3</sup>Die Sättigungsstromdichte liegt in der Größenordnung von  $10^{-18} A/cm^2$  [33].

Das Auftreten von Ionisationseffekten innerhalb des Gases kennzeichnet den Übergang in die technisch bedeutsameren selbstständigen Entladungen, die sich gemäß Abbildung 2.10 in Townsend-Entladung, Glimmentladung und Bogenentladung unterteilen lassen. Dabei hat die Spannung bzw. das elektrische Feld ein Niveau erreicht, bei dem es durch Stöße von Gasteilchen zur sogenannten Stoßionisation kommt (vgl. Kapitel 2.1.3). Bei moderaten Gas-temperaturen bildet die Elektronen-Stoßionisation den dominierenden Mechanismus zur Erzeugung neuer Ladungsträger im Gas. Dazu müssen die Elektronen mit der Masse  $m_e$  und Beweglichkeit  $\mu_e$  gemäß Gleichung 2.16 in einem elektrischen Feld  $\vec{E}$  zwischen zwei aufeinanderfolgenden Stößen auf kinetische Energien  $E_{kin}$  beschleunigt werden, die mindestens der gasspezifischen Ionisierungsenergie  $E_{ion}$  der Neutralteilchen entspricht:

$$E_{kin} = \frac{m_e \cdot (\mu_e \cdot \vec{E})^2}{2} \geq E_{ion}. \quad (2.16)$$

Während für molekularen Wasserstoff (15,4 eV) und Stickstoff (15,6 eV) sowie Argon (15,8 eV) vergleichbare Ionisierungsenergien aufgebracht werden müssen, verfügt Helium mit 24,6 eV über ein deutlich höheres Ionisationspotential [35]. Die für das Auftreten der Stoßionisation benötigte Feldstärke hängt von der mittleren freien Weglänge der Elektronen im Gas  $\lambda_e$  und somit von Druck  $p$  bzw. Teilchendichte  $n_g$  und über das ideale Gasgesetz von der Temperatur  $T$  des Gases ab (siehe Gleichung 2.6). Den Zusammenhang zwischen der Feldstärke  $\vec{E}$  und einem elektrischen Potential  $\phi$  bildet in der elektrostatischen Beschreibung die Poisson-Gleichung 2.17, die darüber hinaus das elektrische Potential mit der Ladungsdichte  $\rho$  und der materialspezifischen Permittivität  $\epsilon_r$  verknüpft:

$$\nabla \cdot \vec{E} = \Delta\phi = -\frac{\rho}{\epsilon_r}. \quad (2.17)$$

Sobald die Bedingungen für das Auftreten von Stoßionisation erfüllt sind, kann es wie in Abbildung 2.11 dargestellt zur lawinenartigen Vervielfachung von Elektronen kommen (Lawineneffekt, Elektronenlawine). Dabei werden durch ein Startelektron bei einem ionisierendem Stoß mit dem Neutralgas zunächst weitere Elektronen ausgelöst, die dann ihrerseits beschleunigt werden und Ionisationsereignisse initiieren können. Zur mathematischen Beschreibung in Gleichung 2.18 wird für die Anzahl  $N$  der von einer Startelektronenmenge  $N_{start}$  pro Längeneinheit  $d$  neu erzeugten Elektronen die Ionisierungszahl  $\alpha$  verwendet, die auch als erster Townsend'scher Ionisierungskoeffizient

bezeichnet wird. Daneben spielt die Ionisierung durch positive Ionen ( $\beta$ ) zu-  
meist eine untergeordnete Rolle [33].

$$N = N_{\text{Start}} \cdot e^{\alpha d} \quad (2.18)$$

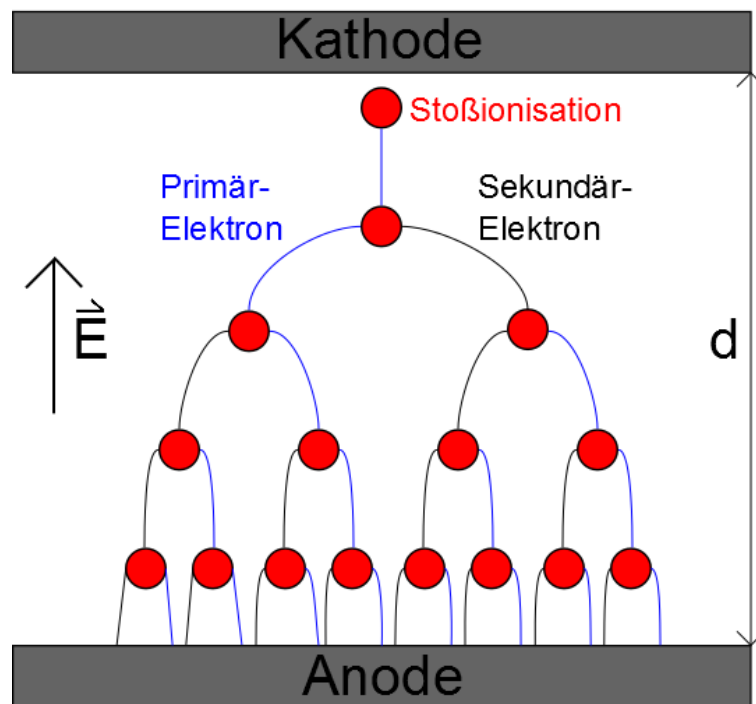


Abbildung 2.11: Schematische Darstellung der lawinenartigen Elektronen-Vervielfachung durch Stoßionisation in einem elektrischen Feld.

Der Lawineneffekt ist von fundamentaler Bedeutung für alle selbstständigen Gasentladungen. Bei ausreichend hohen Gasdichten und einem niederohmigen Stromkreis kann er zu einem exponentiellen Stromanstieg und schließlich zum Durchschlag führen. Hingegen kann sich durch Strombegrenzung (u.a. geringe Gasdichte, Bauform der Elektroden, resistive Elemente bzw. Schaltungskonzept) ein stabiler Entladungszustand ausbilden. Die sich einstellende Entladungsform kann somit neben der Wahl des Arbeitsgases und des Druckregimes durch konstruktive und elektrotechnische Maßnahmen beeinflusst werden [33].

### Townsend-Entladung

Anhand der Modellvorstellung einer Townsend-Entladung lässt sich anschaulich verdeutlichen, dass neben dem Lawineneffekt im Gasvolumen die Freisetzung von Elektronen an den Elektrodenoberflächen (Sekundärelektronen) ein grundlegender Mechanismus für selbstständige Gasentladungen ist. Die Emission dieser Sekundärelektronen erfolgt dabei nicht thermisch oder durch Feldemission, sondern lässt sich ursächlich auf Stöße mit beschleunigten positiven Ionen sowie Photoionisation durch Strahlung aus dem Bereich der Elektronenlawine zurückführen. Diese Effekte können als Rückkopplung der Initia lawine in Abbildung 2.12a verstanden werden, durch deren Auswirkung kathodenseitig neue Startelektronen für nachfolgende Elektronenlawinen in Abbildung 2.12b zur Verfügung stehen. In der mathematischen Beschreibung wird für die Zahl der je auftreffenden positiven Ionen freigesetzten Startelektronen der Sekundärelektronen-Emissionskoeffizient  $\gamma$  (auch Oberflächenionisierungszahl, Rückwirkungskoeffizient oder zweiter Townsend'scher Ionisierungskoeffizient) verwendet<sup>4</sup> [33]. Die Zündbedingung nach Townsend ist in Gleichung 2.19 unter Verwendung des Elektrodenabstands  $d$  formuliert [22]:

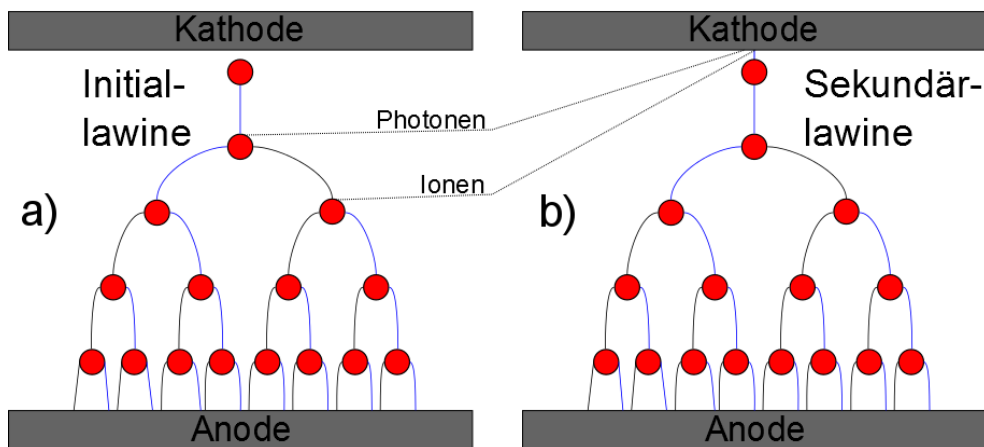


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung einer initialen Elektronenlawine (a) sowie deren Rückkopplung auf die Kathodenoberfläche mit resultierender Initiierung von Folgelawinen (b) im Modell der Townsend-Entladung.

<sup>4</sup>Die Mechanismen zur Freisetzung von Elektronen aus Oberflächen umfassen neben dem Ionenbeschuss der Kathode (sowie der Anode) auch den Photoeffekt, sowie Stöße mit schnellen Neutralteilchen und Metastabilen [36]. Konkrete Werte für  $\gamma$  lassen sich der Literatur entnehmen oder durch eine empirisch ermittelte Relation in [34] abschätzen.



$$\gamma \cdot (e^{\alpha \cdot d} - 1) \geq 1. \quad (2.19)$$

Für die als raumladungsfrei betrachtete Townsend-Entladung existiert ein Modell, das die Bestimmung der für eine selbstständige Gasentladung (Zündung) benötigten Spannung  $U_z$  ermöglicht - das experimentell ermittelte Paschen-Gesetz in Gleichung 2.20 und dessen graphische Darstellung, die sogenannten Paschenkurven, in Abbildung 2.13 [37]:

$$U_z = \frac{B \cdot p \cdot d}{\ln(A \cdot p \cdot d) - \ln[\ln(1 + \gamma^{-1})]}. \quad (2.20)$$

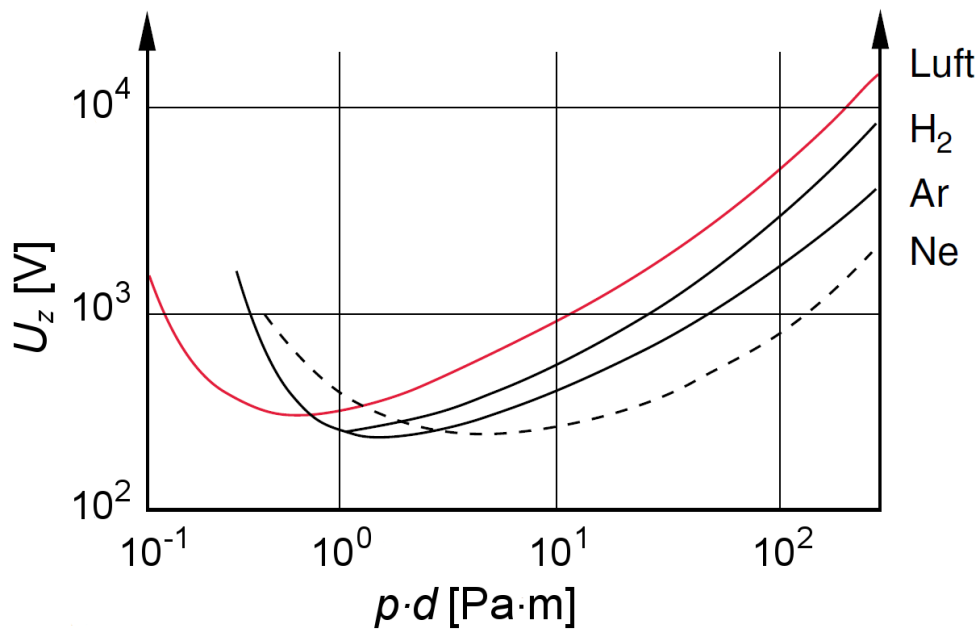


Abbildung 2.13: Mit dem Paschen-Gesetz berechnete Abhängigkeit der Zündspannung  $U_z$  von dem Produkt aus Druck  $p$  und Elektrodenabstand  $d$  für verschiedene Gase [30].

Gemäß dem Paschen-Gesetz ist  $U_z$  eine Funktion des Drucks  $p$ , des Elektrodenabstands  $d$ , der Gasart (die in Form von Literaturdaten  $A$  und  $B$

abgebildet ist) und des Sekundärelektronen-Emissionskoeffizienten des Elektrodenmaterials  $\gamma$ . Aus dem Paschengesetz lässt sich ableiten, dass bei einem atmosphärischen Druck von ca.  $10^5$  Pa lediglich eine elektrische Spannung von einigen  $10^2$  V benötigt wird, um eine Zündung der Luft zu initiieren. Dieses sogenannte Paschen-Minimum wird jedoch unter diesen Druckbedingungen lediglich bei Elektrodenabständen  $d$  von wenigen  $10^{-6}$  m erreicht. Von weitaus höherer technischer Relevanz sind hingegen Elektrodenabstände von einigen  $10^{-3}$  m, wodurch die Zündbedingung im atmosphärischen Druckregime erst bei Spannungsamplituden im Bereich von einigen  $10^3 - 10^4$  V erfüllt ist. Der Townsend-Mechanismus findet für Entladungsereignisse bei niedrigen Drücken und geringen Elektrodenabständen ( $p \cdot d$ -Werte  $< 5$  Pa m) Anwendung. Bei größeren Werten tritt der Streamer-Mechanismus (s. Kapitel 2.3.2) auf [4].

### Glimmentladung

Die Glimmentladung tritt gemäß der U-I-Kennlinie in Abbildung 2.10 bei höheren Stromdichten und damit gesteigerter Leitfähigkeit des Plasmas auf. Der charakteristische Unterschied zur Townsend-Entladung lässt sich anhand der Auswirkung von Raumladungszonen definieren. Während im Townsend-Modell bei geringen Strömen die Feldstärkeverteilung über den Interelektrodenraum als konstant betrachtet werden kann, kommt es aufgrund der höheren Stromdichten in Glimmentladungen zur Ausbildung von starken Raumladungszonen  $\rho$ , die sich auf die elektrische Feldverteilung entlang der Strecke  $d$  zwischen den Elektroden auswirken (vgl. Poisson-Gleichung 2.17). In Folge dieser ortsabhängigen Feldstärke  $E_d$  kommt es gemäß Abbildung 2.14 innerhalb der Entladungsstrecke zur Schichtung charakteristischer Entladungserscheinungen. Der Übergang von der Townsend- zur Glimmentladung kennzeichnet somit den Übergang von der 0- zur 1-Dimensionalität der räumlichen Verteilung von Entladungserscheinung. Die höchsten Feldstärken treten im sogenannten Kathodenfall auf, wo aufgrund von  $\gamma$ -Mechanismen freigesetzte Elektronen aus der Kathode stark beschleunigt werden [38]. Die Rekombination von auftreffenden Ionen mit freigesetzten Elektronen erzeugt in unmittelbarer Nähe der Kathode eine Leuchterscheinung (Kathodenglimmhaut) [33]. Durch die hochenergetischen Elektronen werden die optimalen Ratenkonstanten für elektronische Gasanregung als Basis von Leuchterscheinungen im *Hittorf'schen Dunkelraum* überschritten. Allerdings erscheint dieser Bereich nur in Relation zum *negativen Glimmlicht* als „dunkel“, da hier durch abgebremste Elektronen die Ratenkonstanten für Emission stark Anwachsen [39]. Innerhalb sowie anschließend an das negative Glimmlicht sind durch unzählige Stoßprozesse derart viele Ionen erzeugt worden, dass sie sich infolge

ihrer geringen Beweglichkeit zu einer positiven Raumladungszone aufstauen. Dies hat zur Folge, dass das externe Feld fast vollständig abgeschirmt wird und die Elektronen im *Faradayschen Dunkelraum* lediglich aufgrund von Diffusion beschleunigt werden. Diese langsame Bewegung erzeugt wiederum eine negative Raumladung, durch deren Potentialkrümmung ein geringes aber konstantes elektrisches Feld im größten Teil der Entladung, der *positiven Säule*, herrscht. Innerhalb der positiven Säule werden die durch Rekombination verlorengegangenen freien Ladungsträger neu erzeugt, wodurch die Kontinuität des Stroms und eines diffusen Leuchtens gewahrt bleibt. Im gleichmäßigen Bereich der positiven Säule verhält sich die Gasentladung elektrisch neutral, weshalb man hier vom Plasmazustand sprechen kann [39]. Bei geringen Gasdrücken zerfällt die ansonsten überwiegend gleichmäßig dargestellte positive Säule in Leuchtscheibchen im Abstand der freien Weglänge, was anschaulich in Abbildung 2.14 zu sehen ist [38].

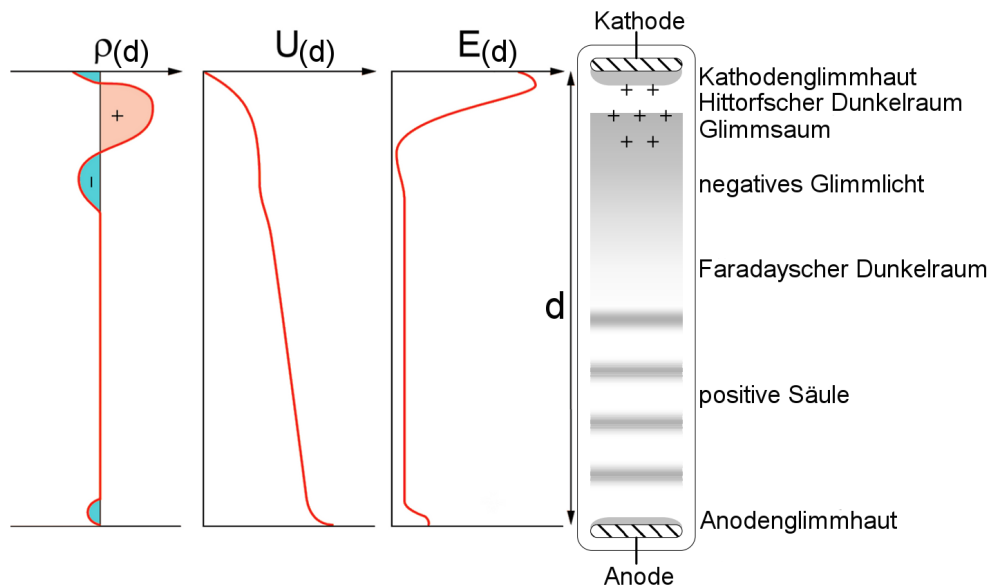


Abbildung 2.14: Verlauf der Feldstärke  $E$ , Spannung  $U$  und Raumladung  $\rho$  entlang der Entladungsstrecke  $d$  und charakteristische Entladungserscheinungen in einer Glimmentladung [38, 33].

Um das Anwachsen des Stroms einer Glimmentladung bei nahezu konstanter Spannung zu verstehen, muss die Glimmentladung sogar in 2-dimensionaler Räumlichkeit betrachtet werden. Ein Anstieg des Stroms hat ein Anwachsen des Plasmabereichs konstanter Stromdichte entlang der Kathodenoberfläche

zur Folge. Sobald die Elektrodenfläche vollständig ausgefüllt ist, kann ein zusätzlicher Stromanstieg nur durch die Erhöhung der Spannung erfolgen [36]. In diesem Fall spricht man von der anomalen Glimmentladung, die den Grenzbereich zwischen Glimm- und Bogenentladungen bildet.

### Bogenentladung

Bei Bogenentladungen kommt es im Gegensatz zu den klassischen Entladungsformen (Teilentladungen) zum Durchschlag der Gasstrecke, sodass das elektrische Potential zum Zeitpunkt des Gasdurchbruchs während der Entladung nicht aufrecht erhalten werden kann. In einem Druckbereich von einigen hPa bis 10 MPa ist dieser Entladungstyp aufgrund fehlender strombegrenzender Elemente oder Effekte von hohen Stromdichten gekennzeichnet [38]. Diese Stromdichten können durch den Effekt der „Joule’schen Heizung“ als ursächlich für eine wesentliche Aufheizung des Gases wie auch der Elektroden betrachtet werden [30].

Charakteristisch für Bogenentladungen sind derart hohe Temperaturen, dass der ansonsten in den selbstständigen Entladungen zu vernachlässigende Mechanismus der Thermoionisation an Einfluss gewinnt und sogar die wesentliche Rolle bei der Auslösung von Startelektronen aus der Kathode übernehmen kann (Glühemission). Bei sehr großen Strömen kann es durch die Ausbildung einer positiven Raumladungszone zu starken Feldüberhöhungen kommen, sodass Feldemission von Elektronen an der Kathode möglich wird [38]. Die aufgrund der zusätzlichen Mechanismen zur Generierung freier Ladungsträger gesteigerte Leitfähigkeit des Plasmas hat ein Absinken der Brennspannung zur Folge, sodass Bogenentladungen unter Normalbedingungen mit lediglich 10-100 V aufrecht erhalten werden können. Der Spannungsabfall erfolgt aufgrund der Ansammlung positiver Ionen überwiegend unmittelbar vor der Kathode als sogenannter „Kathodenfall“ [33].

Der tatsächliche Durchschlag des Gases erfolgt zunächst über einen durch Photo- und Stoßionisation erzeugten leitfähigen Kanal (Streamer). Dieser kann durch intensive Stoßionisation zu hohen Stromdichten führen, sodass die beschriebenen Effekte durch Thermoionisation und Feldemission auftreten können und sich eine sogenannte Funkenentladung ausbildet. Sofern die Versorgungseinheit ausreichend Energie liefert um die durch Diffusion und Wärmeleitung auftretenden Wärmeverluste auszugleichen, kann sich innerhalb dieser Funkenentladung ein thermodynamisches Gleichgewicht im Gas ausbilden. Erst in diesem Fall spricht man von einer Bogenentladung, deren Auftreten stark von den Umgebungsbedingungen (Wärmesenken) abhängig ist. Sobald die technische Energieversorgung eine vollständige Ther-

malisierung unterbindet, etabliert sich der Zustand der Funkenentladung. Typischerweise treten in Bogenentladungen Temperaturen zwischen 4.000 K und 10.000 K auf. In Einzelfällen können auch Werte von 20.000 K erreicht werden, sodass sich die Entladung nahe einer vollständigen Gasionisierung befinden kann. Aufgrund der hohen Ladungsträgerdichten bilden sich intensive Leuchterscheinungen, weshalb Bogenentladungen auch als Lichtbogen bezeichnet und in der Lichttechnik eingesetzt werden (Bogenlampen) [33].

### 2.3.2 Entladungen in inhomogenen Feldern

Neben den klassischen Entladungen lassen sich weitere Entladungsformen klassifizieren, da neben der Zündbedingung nach Townsend für homogene Felder in Gleichung 2.19 auch eine Zündung des Gases in inhomogenen Feldern erfolgen kann. Dafür muss in Gleichung 2.21 ein feld- und damit ortsabhängiger Ionisierungskoeffizient  $\alpha(E(x))$  verwendet werden [33]:

$$\int_{x=0}^d \alpha(E(x)) dx \geq \ln(1 + 1/\gamma) = k. \quad (2.21)$$

Die Größe  $k$  hängt von den Stoffeigenschaften des Gases und der Kathode ab<sup>5</sup>. Während in schwach inhomogenen Feldern das Erreichen der Zündbedingung überwiegend zum Durchschlag führt, können sich in stark inhomogenen Feldern Teilentladungen ausprägen. In diesem Zusammenhang ist der Streamer-Mechanismus von großer Bedeutung, der im folgenden Abschnitt erläutert wird. Zu den technisch relevanten Teilentladungen in inhomogenen Feldern zählen die Coronaentladung und die Gleitentladung.

#### Streamer-Mechanismus

Der Streamer-Mechanismus beschreibt im Gegensatz zum eher idealisierten Townsend-Mechanismus eine raumladungsbeschwerte Entladungsdynamik und tritt deshalb besonders bei Atmosphärendruck und den dabei häufig auftretenden hohen Ladungsdichten in Erscheinung. Während sich bei der Glimmentladung stationäre räumliche Strukturen sozusagen als Folge der aus mehreren Elektronenlawinen hervorgehenden Raumladungszonen bilden, wirken sich die Raumladungszonen beim Streamer-Mechanismus bereits unmittelbar auf eine einzelne, initiale Elektronenlawine aus [33].

---

<sup>5</sup>Empirisch wurde  $k=7$  für Luft bei Atmosphärendruck und metallischen Elektroden ermittelt - d.h.  $e^7$  Ladungsträger lösen im Mittel ein Elektron aus der Kathode aus [33].

Ebenso wie im Townsend-Modell treten die physikalischen Prozesse der Stoß- und Photoionisation auf. Jedoch erweitert sich unter dem Einfluss von Raumladungszonen die Bedeutung der elektromagnetischen Strahlung für die Entladungsdynamik. Während die Stoßionisation weiterhin für eine lawinenartige Vervielfachung der Ladungsträger sorgt, ist im Gegensatz zum Townsend-Modell der photoelektrische Effekt nicht nur auf Festkörperoberflächen beschränkt. Vielmehr werden zusätzliche Ladungsträger durch Photoionisation auch im Gasvolumen selbst erzeugt. Der zunehmende Einfluss photonischer Prozesse lässt sich physikalisch darauf zurückführen, dass sich beim Streamer-Mechanismus Bereiche mit sehr hohen Feldstärken ausbilden. Diese wirken sich nicht nur in einer Steigerung des Ionisierungskoeffizienten  $\alpha(E(x))$  aus, sondern erhöhen nach Gleichung 2.14 auch die Ratenkonstanten für die elektronische Anregung von Gasteilchen (vgl. Kapitel 2.1.3). Damit steigen auch die Ratenkonstanten für den Umkehrprozess, die spontane Emission, und somit die Photonendichte. Bei ausreichender Feldstärkeüberhöhung können zudem auch höherenergetische Photonen erzeugt werden.

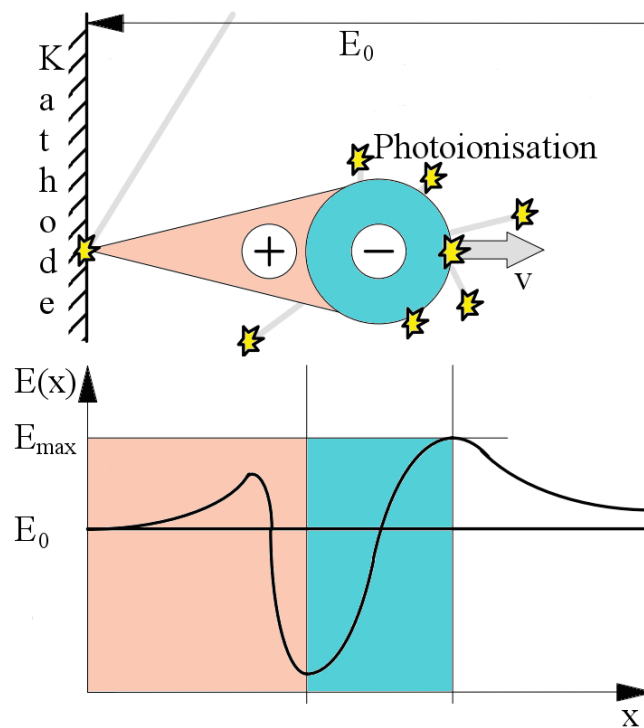


Abbildung 2.15: Schematische Darstellung der Raumladungszonen und der resultierenden Feldverzerrung sowie Photoionisation im Gasvolumen [33].

Aufgrund der unterschiedlichen Beweglichkeiten von Ionen und Elektronen im Gas kommt es in Elektronenlawinen stets zur räumlichen Ladungstrennung. Erst bei Erreichen einer Elektronenzahl von ca.  $10^6 - 10^8$  bilden sich Raumladungszonen aus, die eine nicht zu vernachlässigende Erhöhung der elektrischen Feldstärke  $E_{max}$  in der Umgebung der Elektronenlawine zur Folge haben (Feldverzerrung, Feldüberhöhung) [33]. Gemäß der schematischen Darstellung in Abbildung 2.15 bedeutet dies, dass sich die zunächst im Grundfeld  $E_0$  als Townsend-Entladung beginnende Elektronenlawine allmählich zur Streamer-Entladung weiterentwickeln kann. Für die Modellbildung ist es zweckmäßig, zwischen dem sogenannten *Lawinenkopf* (bestehend aus Elektronen) und dem *Lawinenschwanz* (hauptsächlich bestehend aus positiven Ionen) zu unterscheiden. Der Durchmesser des *Lawinenkopfes* wächst aufgrund von Diffusionsprozessen radial zur Ausbreitungsrichtung an. Unter der Annahme eines *Lawinenkopf*-Radius von  $r_{Kopf} \approx 1/\alpha$  kann die Ausbildung eines Streamers im Gasspalt  $d$  als Bedingung 2.22 für das Überschreiten eines kritischen Wertes für die Lawinenverstärkung  $\alpha \cdot d$  formuliert werden:

$$\alpha(E_0) \cdot d = \ln \frac{4\pi\epsilon_0 E_0}{e\alpha^2} \approx 20, N_e = e^{\alpha d} \approx 3 \cdot 10^8. \quad (2.22)$$

Dieser Zusammenhang ist auch als Meek-Kriterium bekannt. In elektronegativen Gasen (u.a.  $O_2$ ,  $SF_6$ ) kommt es durch Anlagerung von freien Elektronen zur Bildung von negativen Ionen. Dieser Prozess reduziert die Anzahl freier Elektronen und muss durch den Anlagerungskoeffizienten  $\eta$  berücksichtigt werden. Deshalb wird für elektronegative Gase der effektive Ionisierungskoeffizient  $\alpha_e = \alpha - \eta$  verwendet [4, 33].

Für Luft werden Feldstärken zwischen  $24,4 \text{ kVcm}^{-1}$  und  $26 \text{ kVcm}^{-1}$  als untere Grenze für das Auftreten des Streamer-Mechanismus angegeben [4, 33]. Ab diesen Grenzfeldstärken werden gemäß Abbildung 2.16 durch Photoionisation außerhalb des in einer initialen Elektronenlawine (0) ausgebildeten Lawinenkopfes Startelektronen für Sekundärlawinen (1) im Gas bereitgestellt, die ihrerseits weitere Elektronenlawinen (2) initiieren können. Auf diese Elektronen wirken sowohl die radialen elektrischen Felder der positiv geladenen *Lawinenschwänze* der initialen Elektronenlawinen als auch das zwischen den Elektroden wirkende Grundfeld [4]. Deshalb verdichten sich die Ladungsträger in Form eines leitfähigen Plasmakanals ( $n_e \approx 10^{18} - 10^{19} \text{ m}^{-3}$  [22]), der aufgrund der hohen Ausbreitungsgeschwindigkeiten von bis zu  $1 \text{ mm/ns}$  innerhalb kürzester Zeit die Elektroden als sogenannter Streamer verbindet. In der bisher verwendeten Terminologie entspricht dies einem Durchschlag. Dieser fadenartige Plasmakanal ist charakteristisch für den Streamer-Mechanismus, weswegen man neben dem Begriff Streamer auch Kanalentladung verwendet.

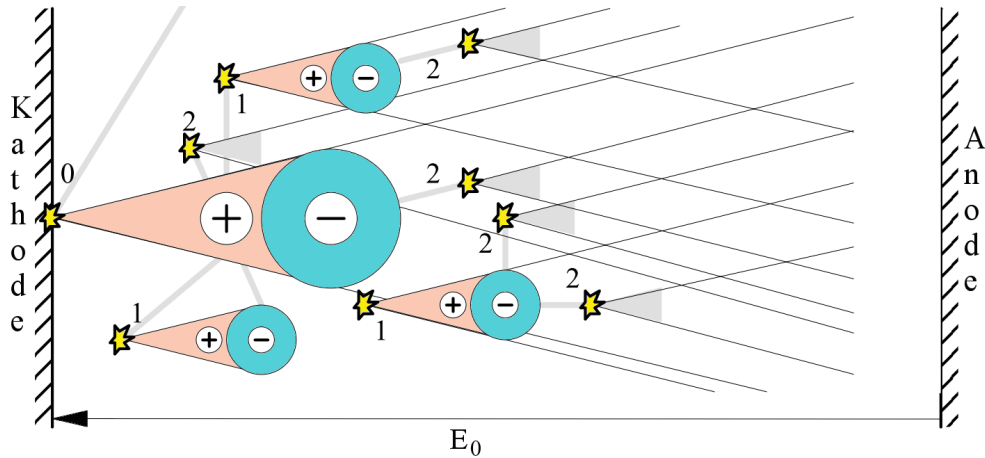


Abbildung 2.16: Schematische Darstellung der kaskadierten Bildung eines leitfähigen Kanals durch viele Einzellawinen beim Streamermechanismus [33].

Das Meek-Kriterium kann erst nach einem gewissen Laufweg einer initialen Elektronenlawine erfüllt sein, weshalb die Streamerbildung an einem bestimmten Ort entlang des Elektrodenabstands  $d$  mitten im Gasvolumen einsetzt. Da die Photoionisation im elektrischen Feld keine Vorzugsrichtung aufweist, bilden von dort ausgehende kathoden- und anodengerichtete Startelektronen den Streamer aus [33]. Bei sehr geringen Abständen zwischen den Elektroden können die Bedingungen für die Streamerbildung unter Umständen erst beim Auftreffen der Initiaillawine auf der Anode erreicht sein. Auch in diesem Fall bildet sich ein kathodengerichteter (positiver) Streamer aus. Bei größeren Abständen und hohen Spannungen bildet sich üblicherweise ein anodengerichteter (negativer) Streamer aus [4].

Der spezifische Energieeintrag in einen Streamerkanal ist aufgrund der geringen Zeitdauern ( $\approx 30$  ns) für das Ausbilden von Streamern sehr gering. In molekularen Gasen beträgt er etwa  $10^{-3}$  eV/mol, was einer Aufheizung von nur wenigen Kelvin entspricht [4]. Nachdem zwei metallische Elektroden durch einen Streamer leitfähig verbunden sind, kann sich in Abhängigkeit vom Schaltungskonzept und der Elektrodenanordnung ein Stromfluss einstellen, der die Ausbildung einer deutlich heißeren Funken- oder Bogenentladung zur Folge hat. Ein Dielektrikum zwischen den Elektroden, welches ein Abfließen der erzeugten Ladungen verhindert, führt hingegen bei unipolarem Betrieb zum Zusammenbruch des Kanals nach erfolgtem Durchschlag (vgl. Kapitel 2.4). Damit wird der Wärmeeintrag ins Gas begrenzt und die Ausbildung eines thermodynamischen Gleichgewichtszustandes unterbunden.



### Coronaentladung

Als Coronaentladungen (auch: Korona) werden Teilentladungen bezeichnet, die bei sehr starken Feldstärke-Inhomogenitäten auftreten und einen vergleichsweise geringen Stromfluss zur Folge haben. Sie sind üblicherweise an spannungsführenden Spitzen und Kanten zu beobachten, an denen sich durch die geringen Radien die starken Feld-Inhomogenitäten und lokalen Feldstärkeüberhöhungen bilden. In der technischen Nutzbarmachung werden für typische geometrische Elektrodenanordnungen gemäß Abbildung 2.17a auch die Begriffe „Spitze-Platte-Anordnung“ („pin-to-plate“) und „Spitze-Spitze-Anordnung“ („pin-to-pin“) verwendet. Beginnend als Glimmentladung lassen sich durch Steigern der Spannung diskrete raumladungsbeschwerte Streamerentladungen erzeugen, die sich gemäß Abbildung 2.17b büschelartig auch in feldschwache Bereiche ausbreiten können. Zudem ist die Ausprägung der Coronaentladung von der Polarität der verwendeten Spannung abhängig. Die Entladung erlischt, wenn die Feldstärke des Grundfeldes nicht mehr für das Streamerwachstum ausreicht. Sobald es durch hohe Stromdichten zu Thermoionisationsprozessen kommt, spricht man von einem Leader (Abbildung 2.17b, oben) [33].

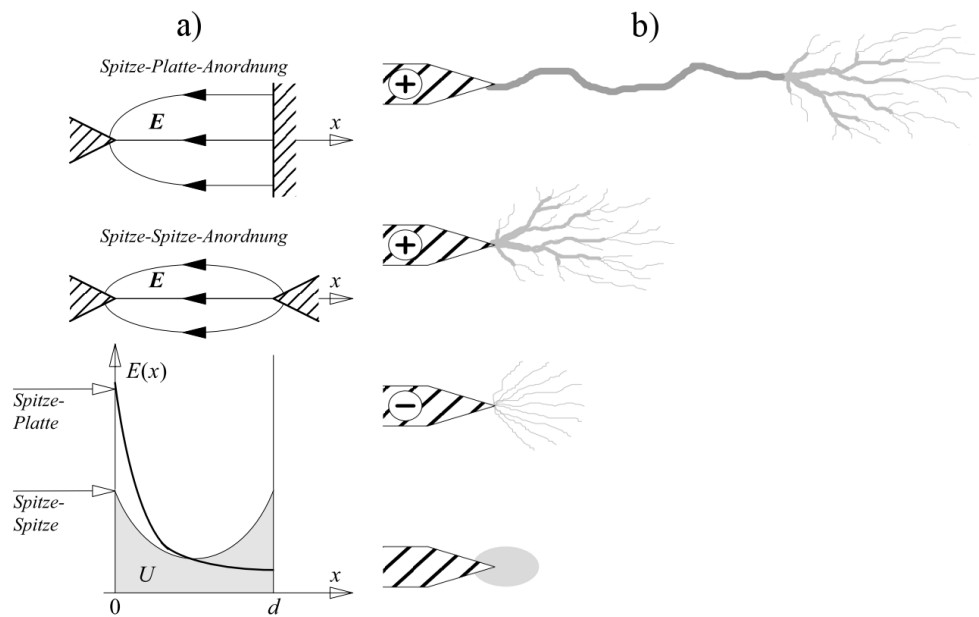


Abbildung 2.17: Typische geometrische Elektrodenanordnungen (a) sowie verschiedene Ausprägungsformen bei der Coronaentladung [33].

### Gleitentladung

Gleitentladungen (Oberflächenentladungen) treten ausschließlich an Grenzflächen zwischen einem Gas und einem Isolator auf. Der Isolator verhindert dabei die Ausprägung als Durchschlag und zwingt das Entladungsphänomen zur Ausbreitung entlang der Isolatoroberfläche. Ausgehend von einer Glimmentladung setzen sich die auch als „geführte Gasentladungen“ bezeichneten Ionisationsvorgänge wie in Abbildung 2.18 dargestellt als Streamer- oder Leaderentladung fort [33].

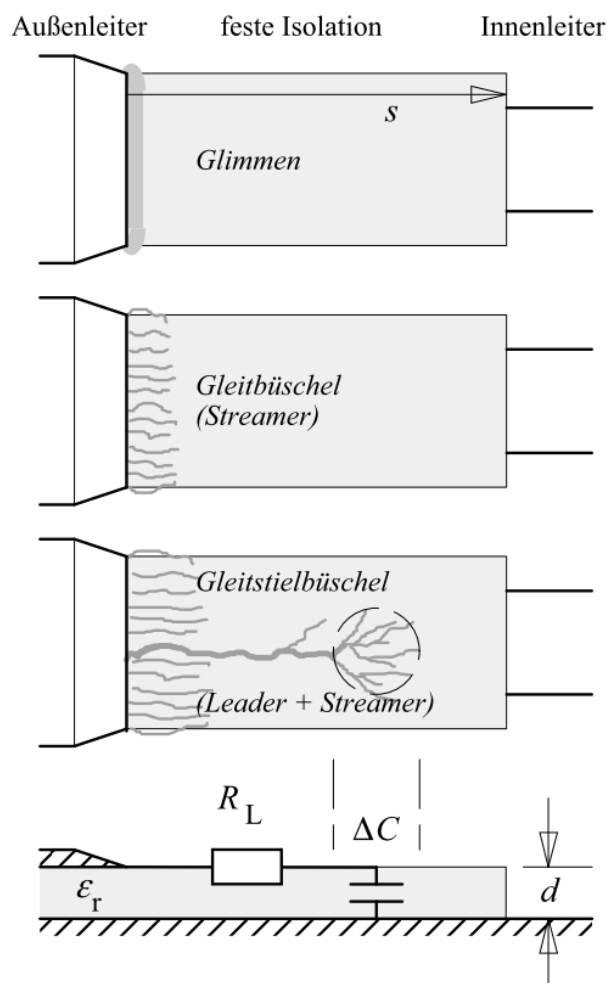


Abbildung 2.18: Entwicklung von Gleitentladungen am Beispiel einer zylindrischen Kabeloberfläche [33].

### 2.3.3 AC- und gepulste Entladungen

Die im Kapitel 2.3.1 beschriebenen Charakteristika der Gasentladungen lassen sich vor allem deswegen herausarbeiten, da sich aufgrund der Kontinuität der elektrischen Energieversorgung nach Erreichen der Zündbedingungen und einer anschließenden Einschwingphase des Systems stationäre Bedingungen im Energie- und Dichteraum ausbilden können.

Bei zeitlich veränderlichen Spannungen sind hingegen die Zündbedingungen nicht stetig erfüllt, wodurch die Ausbildung von stationären Bedingungen erschwert und bei niedrigen Frequenzen sogar unterbunden wird. Neben der Spannungsamplitude wird auch die Frequenz zu einem Systemparameter, der die Leistungseinkopplung und damit die Entladungsbedingungen beeinflusst. In der Plasmatechnik werden Signale mit Frequenzen von einigen Hz bis zu einigen GHz eingesetzt. Im Gegensatz zu den meisten DC-Entladungen weisen Teilchenenergien und -dichten bei dem Betrieb mit Wechselspannung eine Periodizität auf. Man spricht in diesem Zusammenhang auch von quasi-stationären Bedingungen.

Der gepulste Betrieb von Gasentladungen kann durch die freie Wahl des Puls-Pause-Verhältnisses als AC-Entladung mit einem zusätzlichen Systemparameter verstanden werden. Durch niedrige Pulswiederholraten (bis zu einigen 100 Hz) lassen sich besonders „kalte“ Plasmen nahe der Raumtemperatur erzeugen, da es nicht zu einer kontinuierlichen Aufheizung des Gases kommt. Damit ist der gepulste Betrieb von besonderer Relevanz für plasmatechnologische Quellenkonzepte im Bereich der Plasmamedizin. Im Rahmen dieser Arbeit werden ausschließlich gepulste Wechselspannungssignale (Stoßspannungen) eingesetzt. Die Gasentladungen können im gepulsten Betrieb als transiente, in Teilbereichen unabhängige Ereignisse auftreten, wodurch sich energetisch keine (quasi-)stationären Bedingungen ausbilden können. Hingegen können sich die Teilchendichten von relativ langlebigen Spezies nach einer Einschwingphase in einen Gleichgewichtszustand bewegen. Mit zunehmenden Pulswiederholraten gleichen sich die Bedingungen denen des AC-Betriebs an.

Bei sinusförmigen Wechselspannungen benötigt die Spannung  $u(t)$  eine Zeit  $t_0$ , um ausgehend von ihrem Startwert die aus den DC-Entladungen bekannte Zündspannung (Ansprechspannung) für die Initiierung einer Elektronenlawine zu erreichen. Somit ist  $t_0$  lediglich von der Frequenz des verwendeten Signals abhängig. Bei Spannungssignalen mit schnellen Anstiegsraten (hohe Frequenzen bzw. Amplituden [40]) müssen gegenüber der als statisch betrachteten Ansprechspannung  $U_0$  statistische Streuungen berücksichtigt werden. Die Zündbedingungen sind erst dann erfüllt, wenn in einem ausreichend ho-

hen elektrischen Feld auch ein Startelektron zur Verfügung steht. Innerhalb einer statistischen Streuzeit  $t_S$  (ca. 10 ns in Luft) kann es dadurch zum Zündverzug kommen. Die Ausbildung eines leitfähigen Kanals erfolgt innerhalb einer Aufbauzeit  $t_A$  zwischen 10 ns und einigen 100 ns und kann zu einem Entladeverzug führen. Für Funkenentladungen muss darüber hinaus eine Funkenaufbauzeit  $t_F$  für das Anwachsen der Stromdichte bis zum Zeitpunkt des Durchschlags berücksichtigt werden [33].

Die Abbildung 2.19 verdeutlicht den Einfluss der genannten Streuungen auf die effektive Zündspannung  $U_E$  bei AC- und gepulsten Entladungen und veranschaulicht anhand der Spannungs-Zeit-Fläche  $A$  das sogenannte Spannungs-Zeit-Gesetz (auch Flächengesetz nach Kind [41]) in Gleichung 2.23:

$$\int_{t_0+t_S}^{t_0+t_S+t_A} (u(t) - U_0) dt = A = \text{const.} \quad (2.23)$$

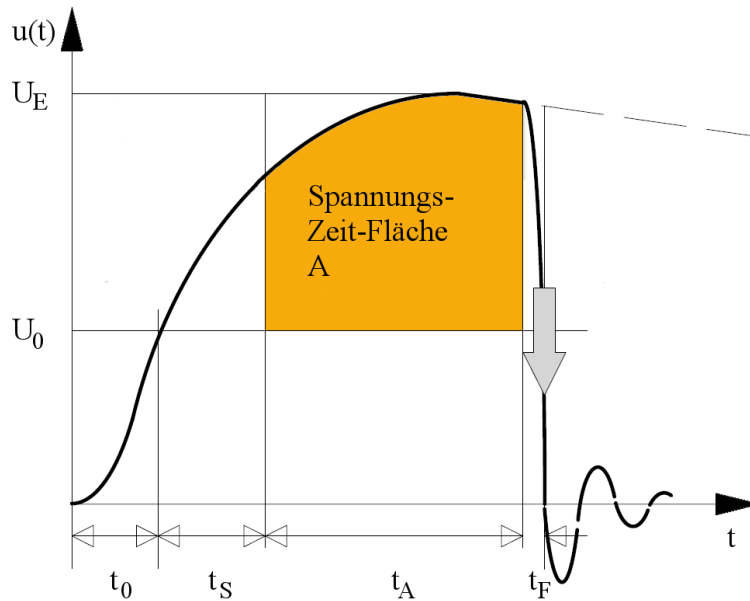


Abbildung 2.19: Statistische Einflüsse auf die effektive Zündspannung  $U_E$  bei dem Einsatz von Signalen mit schnellen Anstiegsraten [33].

Das Spannungs-Zeit-Gesetz besagt, dass die aufgespannte Fläche durch das Produkt aus  $u(t)$  und  $t_A$  oberhalb der nominativen DC-Zündspannung  $U_0$  konstant ist. Bei geringen Überschreitungen von  $U_0$  treten zwangsläufig auch

nur geringe Feldstärkeüberhöhungen zwischen den Elektroden auf. Da die Wachstumsgeschwindigkeit des Entladungsereignisses eine Abhängigkeit von der Feldstärke aufweist, ist die benötigte Zeit für der Aufbau eines leitfähigen Kanals  $t_A$  länger als bei höheren Feldstärkeüberhöhungen.

Da aus den beschriebenen Gründen bei dem Betrieb mit Wechsignalen häufig Feldstärkeüberhöhungen auftreten, erfolgt die Gasentladung bei Atmosphärendruck meist durch den Streamer-Mechanismus [33]. Unter spezifischen Bedingungen kann sich aber auch ein weiterer Mechanismus einstellen.

### Fast Ionisation Wave

Bei gepulsten Gasentladungen mit sehr schnellen Anstiegsraten können im Gasspalt kurzzeitig Spannungen  $U$  auftreten, die entsprechend dem vorangestellten Unterkapitel weit oberhalb der nominativen Durchbruchspannung  $U_0$  des jeweiligen Gases liegen [42]. Der Parameter  $K = U/U_0$  wird zur Quantifizierung dieser „Überspannung“ (overvoltage) definiert und ist in Abbildung 2.20 zur Einteilung unterschiedlicher Durchbruchmechanismen dargestellt.

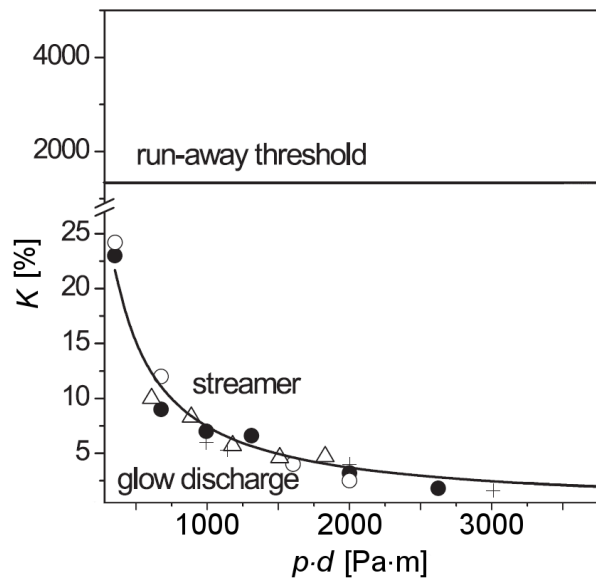


Abbildung 2.20: Einteilung von Durchbruchmechanismen anhand der auftretenden Überspannung in Luft mit  $K = U/U_0$  [40].

Die Verringerung der Pulslänge eines Wechsignals führt bei gleicher Amplitude unweigerlich zu einer höheren Flankensteilheit der Hochspannungspulse,

was ab Anstiegsraten von  $> 1$  kV/ns zu hohen Überspannungen und zur Bildung einer sogenannten *Fast Ionization Wave* (FIW) führen kann [40, 43, 44]. Der FIW-Mechanismus tritt in vielen Druckbereichen und Gasen auf und wird auf die Bildung ausgesprochen energetischer Elektronen zurückgeführt. Deren Auftreten konnte auch in Luft bei atmosphärischem Druck nachgewiesen werden [45, 46]. Der Hauptunterschied zwischen dem Streamer- und dem FIW-Mechanismus besteht darin, dass letzterer eine reproduzierbare Entladung mit hoher räumlicher Homogenität zur Folge hat. Bei FIWs werden signifikante Ionisationsgrade und hohe Konzentrationen von angeregten Spezies erzeugt, bevor sich Ionisationsinstabilitäten ausbilden können [44]. Angesichts dieser Eigenschaften erscheinen FIWs für eine Vielzahl von Plasmaanwendungen äußerst attraktiv (u.a. Oberflächenmodifikation, Lasertechnik, Gasreinigung, Plasmamedizin).

Die Ausbildung einer Gasentladung in Form einer FIW ist an spezielle Voraussetzungen geknüpft. Zunächst muss die energetische Bilanz der Elektronen aus Gewinnen in einem elektrischen Feld und Verlusten durch Stöße zwischen zwei Stoßereignissen zu Gunsten des Energiegewinns ausfallen. Zudem sollten die gasspezifischen Stoßwirkungsquerschnitte mit zunehmender Geschwindigkeit  $v$  stärker als  $v^{-3/2}$  abnehmen. Bei diesen Verhältnissen werden die Elektronen mit jedem Stoß schneller und formen schließlich einen Elektronenstrahl aus, dessen Elemente als *Run-away-Elektronen* bezeichnet werden [22]. Die Entstehung solcher *Run-away-Elektronen* ist unter anderem abhängig von der elektrischen Feldstärke und konnte in  $N_2$ -Entladungen bei reduzierten elektrischen Feldstärken  $E/N > 1100$  Td und in Helium für  $E/N > 190$  Td beobachtet werden [34]. In Luft-Entladungen werden Werte von 2200-9900 Td oder auch 14000 Td berichtet [42, 45]. Der Feldemissionseffekt von Elektronen aus der Kathode wird in der Literatur im Zusammenhang mit der Bildung der *Run-away-Elektronen* diskutiert [47, 48].

Die *Run-away-Elektronen* weisen Energien auf, die bis in den keV-Bereich hineinreichen und das Neutralgas vorionisieren. Dadurch schaffen sie Ausgangspunkte für die Ausbildung von Elektronenlawinen im ansteigenden elektrischen Feld. Die negative Raumladung, die eine solche Elektronenlawine in Form einer Elektronenwolke hervorbringt, sorgt in Verbindung mit der weiterhin ansteigenden Spannung über dem Gasspalt dafür, dass einige der in den Lawinen gebildeten Elektronen ebenfalls auf sehr hohe Energien beschleunigt werden. Die phänomenologisch zu beobachtende Ausbildung einer diffusen Volumenentladung lässt sich physikalisch insofern deuten, als dass sich einzelne Elektronenlawinen überlagern. Dies wiederum lässt darauf schließen, dass die Dichte an Initialladungsträgern, also den durch *Run-away-*

*Elektronen* erzeugten Startpunkten der Elektronenlawinen, vor der Ausbildung des eigentlichen Gasdurchbruchs ausreichend hoch war, um die Entladung auch makroskopisch homogen erscheinen zu lassen [45].

Der Ansatz, durch Vorionisation eines Neutralgases die Ausbildung einer homogenen, glimm-ähnlichen Gasentladungen zu begünstigen, ist weit verbreitet. Dabei widmen sich die Forscher den Entladungseigenschaften, die sich durch ausreichende Vorionisierung unter Verwendung externer UV- bzw. Röntgenquellen einstellen [49, 50]. In der Option, auf diese zusätzlichen Quellen verzichten zu können indem eine ohnehin notwendige Spannungsquelle modifiziert oder ausgetauscht wird, deutet sich das enorme technische Potential dieser Entladungsform an.

## 2.4 Dielektrisch Behinderte Entladung

Im Jahr 1857 wurde von Werner von Siemens ein damals neuartiges Gasentladungskonzept vorgestellt. Seine als „Dielectric Barrier Discharge (DBD)“ bezeichnete Elektrodenkonfiguration eignete sich in besonderem Maße zur technischen Ozonproduktion und bildet noch immer einen technologischen Schwerpunkt in der modernen Trinkwasseraufbereitung [51]. Das Grundkonzept wurde seit seiner ersten Erwähnung vielfach adaptiert, was gemäß Abbildung 2.21 zu unterschiedlichen und flexibel anpassbaren Elektrodenkonfigurationen führte. Auch in der Terminologie findet sich diese Vielfalt wieder und so bezeichnen Begriffe wie Stille Entladung (silent discharge), Barrierenentladung (barrier discharge) oder Dielektrisch Behinderte Entladung (DBE) im Kern nichts weiter als das durch von Siemens vorgeschlagene Konzept. Die DBE weist gegenüber anderen technisch verwendeten Gasentladungsformen einen charakteristischen, konzeptionellen Unterschied auf, denn sie ist dadurch gekennzeichnet, dass sich zwischen zwei Elektroden mindestens ein Dielektrikum befindet. Dies führt in elektrostatischer Betrachtung zunächst dazu, dass das Elektrodenpotential im Gegensatz zu den Betrachtungen in Kapitel 2.3.1 nicht mehr vollständig über den Gasraum abfällt. Vielmehr teilt sich das Potential entsprechend der kapazitiven Spannungsteilung anteilig auf, sodass das Erreichen der Zündbedingungen im Gasspalt bei vorgegebenem Elektrodenpotential und Grundfläche auch zur Funktion der Dicke sowie relativen Permittivität der dielektrischen Barriere wird.

Die Barriere hat darüber hinaus einen charakteristischen Einfluss auf die Entladungsphysik und führt durch Oberflächenladungen sogar zu Varianten

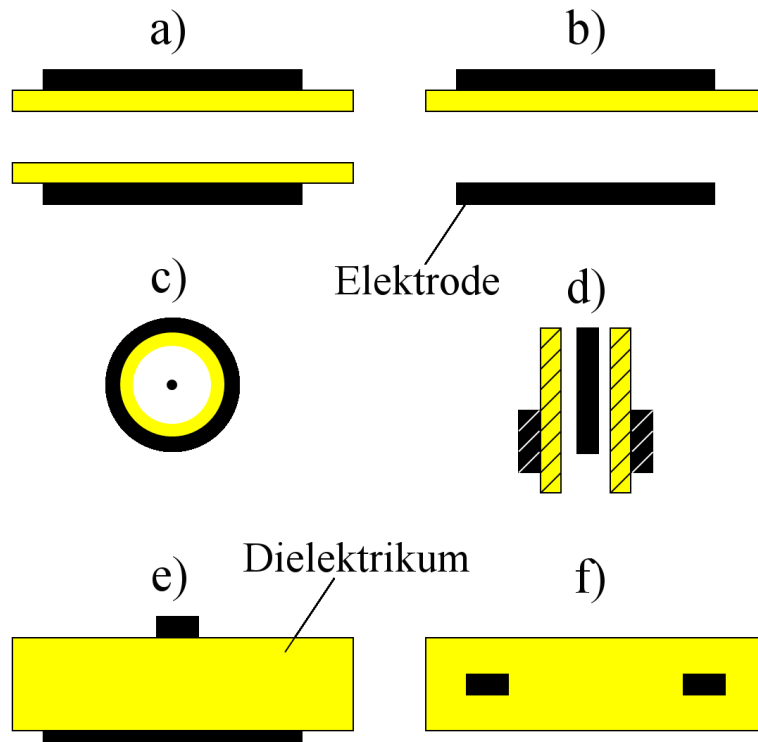


Abbildung 2.21: Auszug aus den möglichen Elektrodengeometrien bei Dielektrisch Behinderten Entladungen: a-b) doppelte bzw. einfache Barriere, c-d) koaxiale Ausführungen, e-f) Oberflächenentladungen.

des aus Kapitel 2.3.3 bekannten Streamermechanismus. Die Entladungsdynamik lässt sich anschaulich anhand einer Fallbetrachtung im unipolaren Betrieb verdeutlichen. Dazu ist ein einzelnes Dielektrikum in Abbildung 2.22 kathodenseitig angeordnet, während sich in Abbildung 2.23 eine einzelne dielektrische Barriere vor der Anode befindet.

Der Fall des kathodenseitigen Dielektrikums wurde u.a. von Pietsch *et al.* in [52] untersucht und ist in [26] erläutert. Zunächst bildet sich bei kathodenseitigem Dielektrikum in Abbildung 2.22 eine anodengerichtete Elektronenlawine aus. Da Elektronen und negative Ionen ungehindert abfließen können, wächst die Anzahl positiver Ladungsträger an, bis bereits im Gasraum eine positive Raumladungszone mit einem Potential ähnlich dem der Anode entsteht. Die damit einhergehende Feldstärkeüberhöhung bewirkt nach Kapitel 2.3.2 einen höheren Ionisierungskoeffizienten  $\alpha(E)$  im Entladungskanal, was wiederum dazu führt, dass diese Raumladungszone sozusagen als



„virtuelle Anode“ sukzessive in Richtung Kathode wandert. Schließlich fällt der Großteil der anliegenden Spannung vor der Kathode ab (Kathodenfall). Der Zeitpunkt an dem die stetig an Konzentration und Energie zunehmende Raumladungszone die Dielektrikumoberfläche erreicht und sich durch radiale Felder entlang der Oberfläche ausbreitet (Lichtenberg-Figuren) leitet das Ende der Entladung ein, da der Gasraum nun feldfrei ist. Unter Umständen kann beim Zusammenbruch der Spannung eine erneute Zündung in dem durch Oberflächenladungen aufrecht erhaltenen Feld erfolgen [22].

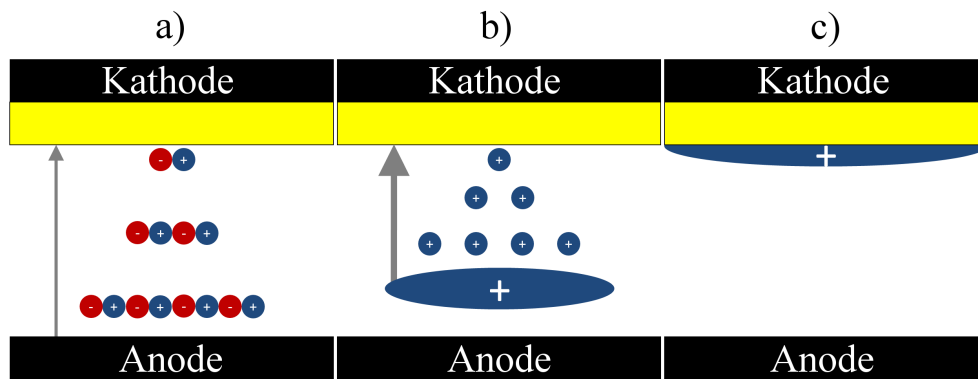


Abbildung 2.22: DBE-Entladungsdynamik bei kathodenseitiger Barriere: Eine Elektronenlawine bildet einen leitfähigen Kanal a), innerhalb dessen eine positive Raumladungszone zur Feldüberhöhung führt b) bis der Gasspalt aufgrund einer positiven Oberflächenladung vor der Kathode c) feldfrei ist.

Der zweite Fall, bei dem sich die dielektrische Barriere vor der Anode befindet, wurde u.a. von Steinle *et al.* in [53] modelliert und wird in [22] erläutert. Die Autoren konnten dabei charakteristische Entladungsphasen für einen ebenen Aufbau nach Abbildung 2.23 identifizieren. Bei Erreichen der Zündbedingungen startet (nicht dargestellt) wie im zuvor betrachteten Fall eine anodengerichtete Elektronenlawine, deren Elektronen auf der Oberfläche des Dielektrikums zu einer ungleichmäßigen Aufladung und damit zu einer radialen Feldkomponente führen. Da die Ionen als ortsfest betrachtet werden können, baut sich ein hohes elektrisches Feld auf, innerhalb dessen mehr Ladungsträger erzeugt werden als durch Drift verloren gehen. Diese Ionisationsereignisse leiten in Abbildung 2.23b einen „positiven Streamer“ (kathodengerichtete Ionisationswelle) ein, der bei Erreichen der Kathodenoberfläche zu einem Kathodenfall führt und eine Glimmentladung entstehen lässt. Die darin erzeugten negativen Ladungsträger akkumulieren sich stetig

auf dem Dielektrikum und bilden schließlich eine Oberflächenladung, deren Kompensation des externen Feldes das Ende der Entladung einleitet.

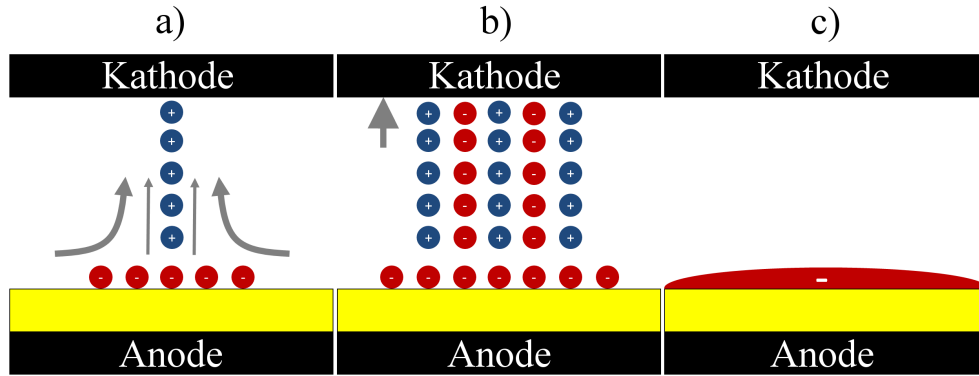


Abbildung 2.23: DBE-Entladungsdynamik bei anodenseitiger Barriere: Radiale Felder entstehen a), die einen positiven Streamer in Richtung Kathode initiieren b) bis schließlich der Gasspalt durch eine negative Oberflächenladung an der Anode c) feldfrei wird.

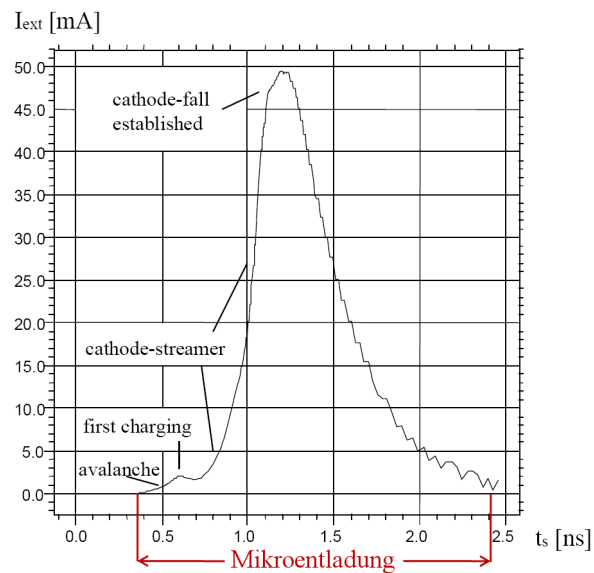


Abbildung 2.24: Entladungsphasen während einer Mikroentladung anhand des simulierten Stromverlaufs einer anodenseitigen Barrierenanordnung [53].

Anhand des Stromverlaufs der anodenseitigen Barrierenanordnung in Abbildung 2.24 lassen sich einzelne Phasen kenntlich machen. Fallunabhängig lässt sich an diesem Beispiel auch eine Definition des Begriffs Mikroentladung verdeutlichen, welcher für die Summe der Prozesse von der initialen Elektronenlawine über die Streamerausbildung bis hin zur Terminierung des Elektronenstroms verwendet wird [4].

Für den kombinierten Fall, in dem beide Elektroden mit einem Dielektrikum bedeckt sind (u.a. Abbildung 2.21a), wird die Dauer des Entladungsereignisses von der Aufladung der anodenseitigen Barriere bestimmt, da hier die beweglicheren Elektronen die Entladungsdynamik bestimmen [54].

Die Mikroentladungen führen zur Selbstlöschung des Plasmas, wodurch ein unipolarer Betrieb erst nach dem Abfließen bzw. Rekombinieren der Oberflächenladungen möglich ist [22]. Für einen effizienten Betrieb der DBE werden deshalb überwiegend Wechselsignale eingesetzt, die für kontinuierliche Entladungsereignisse sorgen. Da letztere transiente Vorgänge sind, kann sich innerhalb der zur Verfügung stehenden Zeit während eines Entladungsereignisses (10-100 ns) kein thermisches Gleichgewicht im Plasma ausbilden. Dieser Umstand führt dazu, dass sich durch den Einsatz der DBE Niedertemperatur-Plasmen bei atmosphärischem Druck bereitstellen lassen.

Daraus ergeben sich enorme Möglichkeiten für die Prozesstechnik, da durch die geringe Gastemperatur während der plasmachemischen Phase Reaktionspfade begünstigt werden können, deren chemische Produkte bei höheren Gastemperaturen nicht bereitzustellen wären (u.a. Ozon) [22]. Diese Attribute gepaart mit dem konstruktiv wie auch ökonomisch attraktiven Betrieb bei Normalbedingungen kennzeichnen das immense technische Potential der DBE. Dieses wurde erst lange nach von Siemens erkannt und leitete durch eine Vielzahl grundlagenorientierter Untersuchungen sowie der Erschließung unterschiedlichster Anwendungsbereiche (u.a. Licht-, Laser-, Beschichtungs- und Halbleitertechnik [55, 56]) erst in den letzten Jahrzehnten den Aufstieg vom Konzept zu einem erfolgreichen plasmatechnologischen Prinzip ein. Aus den erwähnten Merkmalen der DBE lässt sich auch das besondere technologische Potential für grundlagen- und anwendungsorientierte plasmamedizinische Forschung ableiten. So werden im Rahmen dieser Arbeit ausschließlich Plasmaquellen eingesetzt, die auf dem Konzept der Dielektrisch Behinderten Entladung beruhen und eine direkte Exposition von biologischem Gewebe mit dem Plasma ermöglichen (vgl. Kapitel 4).

Das makroskopisch beobachtbare Entladungsphänomen kann bei der Dielektrisch Behinderten Entladung in unterschiedlichen Modi auftreten:

- filamentierter Modus (geringe Anzahl verteilter Filamente),
- diffuser Modus (hohe Anzahl optisch diffuser Mikroentladungen),
- homogener Modus (glimm-ähnliche Entladungsstruktur).

Der filamentierter Modus bildet den häufigsten DBE-Modus und prägt sich bei Normalbedingungen und dem Betrieb mit Wechsignalen üblicherweise in einer Vielzahl von fadenförmigen Plasmakanälen aus. Diese sind statistisch über die Oberfläche verteilt (Flächendichte  $\approx 2 \cdot 10^5 \text{ m}^{-2}$ ) und akkumulieren die Ladungen zum Ausgleich des externen Potentials und auf der Dielektrikumoberfläche [22, 57]. Da die Polarität der Elektroden mit typischen Frequenzen von 0,05-100 kHz wechselt, können sich die in der unipolaren Fallbetrachtung beschriebenen Mechanismen am selben Ort überlagern. Aus mehreren Streamer-Generationen bilden sich in diesem Fall makroskopisch sichtbare und räumlich begrenzte Filamente aus, deren fadenförmiger Rumpf mit gespreiteten Fußpunkten an den beiden Dielektrikaoberflächen beispielhaft in Abbildung 2.25 dargestellt ist [4].

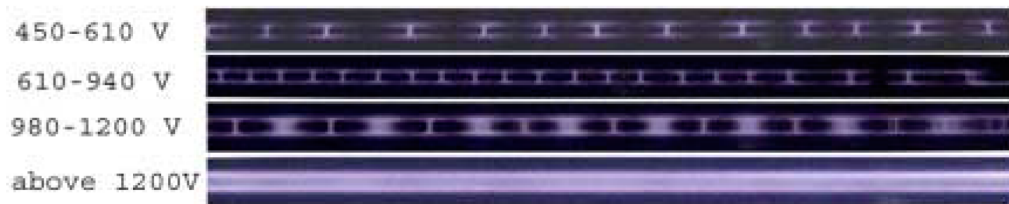


Abbildung 2.25: Filament-Strukturen bei einer eindimensionalen DBE-Anordnung als Funktion der Spannungsamplitude (Sinus mit  $f=16 \text{ kHz}$ , He/Ar-Gemisch, Atmosphärendruck [58]). Entnommen aus [59].

Filamente entstehen üblicherweise bei Potentialdifferenzen knapp oberhalb der Zündbedingungen (Abbildung 2.25, 450-940 V), da die Zündbedingungen nicht an jedem Ort erfüllt oder durch Oberflächenrauigkeiten der Elektroden begünstigt werden. Eine hohe Frequenz des Wechsignals unterstützt diesen Effekt, da freie Ladungsträger aus Primärereignissen präferierte Gebiete für Sekundärereignisse vorgeben [60]. Eine Steigerung der Potentialdifferenz lässt zunächst die Anzahl einzelner Filamente anwachsen (Abbildung 2.25, 610-940 V). Typische Wertebereiche für die Eigenschaften einzelner Filamente lassen sich der Literatur entnehmen und sind in Tabelle 2.2 dargestellt [61].

Tabelle 2.2: Typische Wertebereiche von Filamenten bei der DBE.

	Referenz [62]	Referenz [60]
Dauer	$1,0 - 1,5 \cdot 10^{-8} \text{ s}$	$10^{-9} - 10^{-8} \text{ s}$
Radius	$1,5 \cdot 10^{-4} \text{ m}$	$10^{-4} \text{ m}$
max. Strom	-	0,1 A
Stromdichte	$10^6 \text{ A/m}^2$	$10^6 - 10^7 \text{ A/m}^2$
Elektronendichte	$10^{17} - 10^{19} \text{ m}^{-3}$	$10^{20} - 10^{21} \text{ m}^{-3}$
mittlere Elektronenenergie	5 eV	1 – 10 eV
Gesamtladung	-	$10^{-10} - 10^{-9} \text{ C}$

Sobald durch ausreichend hohe Feldstärken die Zündbedingungen an jedem Ort zwischen den Elektroden jederzeit erfüllt sind und durch niedrige Frequenzen des Wechselsignals keine Vorzugspunkte durch freie Ladungsträger existieren, kann das Entladungsbild in einen diffusen Modus aus sich überlagernden Mikroentladungen überführt werden (Abbildung 2.25,  $> 1200 \text{ V}$ ) [60]. Es treten auch Mischformen aus filamentiertem und diffusem Modus auf (Abbildung 2.25, 980-1200 V). Unter Verwendung extrem schneller Anstiegsraten des Wechselsignals ( $> 1 \text{ kV/ns}$ ) kann die Entladungsdynamik einer in Luft bei Atmosphärendruck betriebenen DBE von der üblichen Streamerausbildung abweichen und entsprechend der Abläufe bei der Fast Ionisation Wave (vgl. Kapitel 2.3.3) erfolgen. In diesem Fall prägt sich eine homogene, glimm-ähnliche Plasmastruktur wie in Abbildung 2.26b aus.

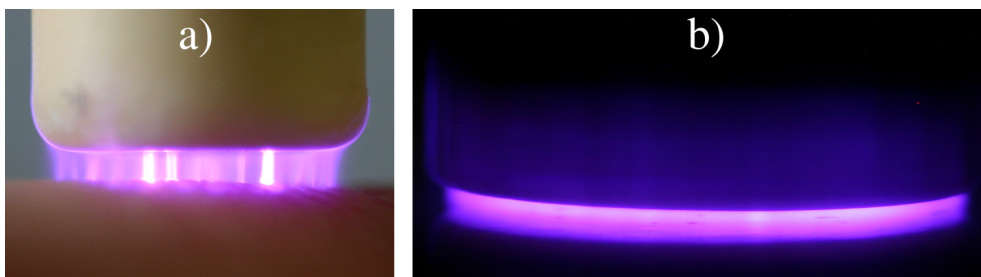


Abbildung 2.26: Fotografie a) einer teils filamentierten, teils diffusen DBE auf einer Hautoberfläche mit Anstiegsraten von ca.  $12 \text{ V/ns}$  [63] und b) einer homogenen, glimm-ähnlichen Erscheinung der DBE bei der Anordnung auf einem Nährmedium mit Anstiegsraten von ca.  $940 \text{ V/ns}$  [64].

# Kapitel 3

## Stand der Technik

Durch Gasentladungen erzeugte Plasmen werden in der Medizintechnik bereits seit vielen Jahren in unterschiedlichen Verfahren auf Basis anwendungsspezifisch entwickelter Plasmaquellen eingesetzt. Entsprechende Produkte haben bis dato im Vergleich zu laserbasierten Produkten in geringer Zahl und in einem überschaubaren Fachbereichsfeld Einzug gehalten. Die (unter Einschränkungen) auf dem Markt verfügbaren Plasmaquellen lassen sich entsprechend ihrer genutzten Wirkprinzipien für die jeweiligen Applikationen vereinfacht in drei Gruppen einteilen:

- Atmosphärendruckplasmen zum Transport von thermischer Energie ins Gewebe,
- Niederdruckplasmen für die Erzeugung reaktiver Gasspezies zur Sterilisation von medizinischen Instrumenten,
- Atmosphärendruckplasmen für human-medizinische Behandlungen.

In der ersten Gruppe finden sich plasmabasierte Produkte, die bei Atmosphärendruck betrieben werden und auf die kontrollierte Deposition von thermischer Energie in biologisches Gewebe abzielen. In der Chirurgie wird dies zur Koagulation<sup>\*6</sup>, also der Hämostase<sup>\*</sup> des Blutes, oder zur Verödung und Entfernung unerwünschten Gewebes genutzt. Dabei wird das Gewebe durch den auftretenden Stromfluss für Koagulationsanwendungen auf Temperaturen von  $< 100\text{ °C}$  und für das Schneiden des Gewebes auf  $> 100\text{ °C}$  erhitzt

---

<sup>6</sup>Biologische und medizinische Fachbegriffe sind gekennzeichnet (\*) und werden im Glossar unter Anhang A erläutert.

[65]. Die Anwendung der Plasmen zielt vornehmlich auf nekrotische\* Zellveränderungen ab. Damit gelten die verfügbaren Produkte als technologische Weiterentwicklung der Elektrokoagulation. Der Vorteil der Plasmakoagulation gegenüber der herkömmlichen Elektrokoagulation besteht darin, dass der Stromfluss durch den Körper kontaktfrei erfolgt und zugleich auf ein Minimum reduziert werden kann. Auch auf die Gegenelektrode, die bei der klassischen Elektrokoagulation unterhalb des Patienten platziert werden muss, kann verzichtet werden. Bereits im Jahr 1990 hat das Unternehmen Erbe Medizintechnik mit dem Produkt APC® ein System auf dem Markt platziert, welches durch elektrische Energiezufuhr in das Arbeitsgas Argon ein Plasma erzeugt [66].

Ein vergleichbares Produkt wird vom Unternehmen Plasma Surgical, Inc. vertrieben. Bei dem System PlasmaJet® ist bereits die vergleichsweise geringe elektrische Spannung von 30 V ausreichend, um das Argonplasma zu erzeugen [67]. Das Unternehmen Söring GmbH verwendet bei dem technisch vergleichbaren Produkt CPC das Edelgas Helium anstelle von Argon [68].

Die Weiterentwicklung zur Coblation®-Technology durch das Unternehmen ArthroCare ermöglicht eine für die Technologie namensgebende „kalte Ablation (cold ablation)“. Dabei wird das Plasma in einer Salzlösung innerhalb des Körpers erzeugt, wodurch eine als sanfter eingestufte Entfernung des Gewebes bei Temperaturen von 40-70 °C erfolgt [69].

Niederdruckplasmen werden bevorzugt im Fachgebiet der Hygiene eingesetzt. Dabei wurde das mikrobizide Potential dieser Technologie gezielt genutzt, um großvolumige Produkte zur Niedertemperatur-Sterilisation zu entwickeln. Bereits seit 1993 vertreibt das Unternehmen ASP, ein Geschäftsbereich der Johnson & Johnson Company, einen Sterilisator mit dem Produkt-namen Sterrad®. Bei diesen Systemen wird bei Drücken von 66-120 Pa ein Wasserstoff-Peroxid-Plasma erzeugt, um mit Behandlungszeiten von 28-75 Minuten bei Temperaturen von ca. 55 °C kontaminierte medizintechnische Güter zu sterilisieren. Die Abbauprodukte umfassen Wasser und Sauerstoff und sind damit umwelttechnisch unbedenklich.

Im Gegensatz zum Sterrad®-System wurde beim Produkt Plazlyte® des Konkurrenten Abtox, Inc. Peressigsäure als Arbeitsgas eingesetzt. Der Vertrieb des Plazlyte® wurde jedoch eingestellt, nachdem der Hersteller im Jahr 1998 auf Grund von Corneadestruktionen\* durch behandelte chirurgische Instrumente zu einer Rückrufaktion angehalten war [70].

In der letzten Produktgruppe finden sich Atmosphärendruck-Plasmaquellen, durch deren Einsatz überwiegend nicht-nekrotische Veränderungen des Gewebes herbeigeführt werden sollen. Im Bereich der Zahnmedizin ist für die

Behandlung von Zahnkaries das Produkt Biogun<sup>®</sup> des Unternehmens Dentron Limited seit dem Jahr 1995 in England verfügbar. Bei diesem Gerät wird mit einer Gleichspannung von 10 kV eine Corona-Entladung an der Spitze einer flexibel ausgeführten, metallischen Elektrode erzeugt, die direkt in Kontakt mit lebendem Gewebe gebracht werden kann. Der Hersteller erklärt die in vivo nachgewiesene bakterizide Wirkung dieser Quelle im Jahr 1993 mit der Bildung von Hyperoxidanionen ( $O_2^-$ ) in der Gasentladung [71]. Unter Verwendung der Biogun<sup>®</sup> konnte ferner in einer Pilotstudie im Jahr 2006 die Reduktion von Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* (MR-SA) an Patienten mit diabetischem Fußsyndrom um 60 % nachgewiesen werden [72]. Der Hersteller Dentron verweist auch auf die Wirksamkeit seiner Plasmaquelle bei Warzen an Händen und Füßen - die wissenschaftliche Datenlage hinsichtlich dieser therapeutischen Anwendungen ist jedoch unsicher. Obwohl die Kosmetik in Deutschland kein Fachgebiet der Medizin ist, soll auf Grund der verfahrenstechnischen Nähe auch ein plasmabasiertes Produkt aus dem kosmetischen Bereich aufgeführt werden. Mit dem Produkt Portrait<sup>®</sup> Plasma Skin Regeneration (PSR) hat das Unternehmen Rhytec im Jahr 2005 einen stickstoffbetriebenen, hochfrequenten Plasma-Jet auf dem Markt platziert [73]. Dieses Gerät verfügt über eine Freigabe der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) für die Behandlung von Gesichtsfalten, oberflächlichen Hautwunden sowie solarer Keratose\* und wurde bereits in klinischen Studien auf seine Wirksamkeit hinsichtlich des Gewebenaufbaus untersucht [74, 75]. Das Plasma kommt auch bei dieser Plasmaquelle in direkten Kontakt mit dem Hautgewebe. Die Wechselwirkungsmechanismen bei diesem Verfahren sind jedoch nicht verstanden bzw. nicht publiziert. Mit dem Produkt Plazon<sup>®</sup> existiert eine modular aufgebaute und somit flexibel an unterschiedliche Applikationen anpassbare Plasmaquelle. Diese wird in den Bereichen Koagulation und Sterilisation, Verödung und Entfernung von totem Gewebe sowie zum Schneiden von biologischem Gewebe als Plasma-Jet eingesetzt [76, 77, 4]. Die Plasmaquelle kann aber auch zur Stimulation regenerativer Prozesse und der Hautwundheilung durch die exogene Zufuhr eines kalten (20-40 °C) Stickstoff-Monoxid(NO)-Gasstroms eingesetzt werden [78]. Technisch wird dabei das Plasma durch eine deutlich über Raumtemperatur arbeitende DC-Bogenentladung erzeugt. Während der stimulativen Konfiguration des Plazon<sup>®</sup> tritt das luftgeströmte Plasma zu keinem Zeitpunkt mit dem Gewebe in direkte Wechselwirkung. Stattdessen dient es als chemischer Reaktor für die Erzeugung eines NO-enhaltenden Gasstroms, der vor der Anwendung am Menschen durch eine Flüssigkeitskühlung auf ein gewebetolerables Temperaturniveau heruntergekühlt werden muss.



Aufgrund dieser Übersicht kann resümiert werden, dass lediglich die letzte Produktgruppe vergleichbare technologische Zielstellungen wie die moderne plasmamedizinische Forschung aufweist und den gerätetechnischen Ansprüchen genügt. Die publizierte Datenlage zu den von wenigen Unternehmen weltweit vertriebenen Produkten beschränkt sich jedoch häufig auf phänomenologische Beobachtungen oder Wirksamkeitsnachweise und empirische Daten, ohne dabei ein grundlegendes, wissenschaftliches Konzept zu den erwartungsgemäß komplexen Wirkmechanismen liefern zu können. Dieser Umstand kann vermutlich als ursächlich dafür angesehen werden, dass die schonende und auf eine nicht-nekrotische Wirkung abzielende Anwendung der Plasmatechnologie direkt am Patienten sich bisher noch in keinem medizinischen Standardverfahren etablieren konnte.

# Kapitel 4

## Stand der Forschung

Die plasmamedizinische Quellen- und Verfahrensentwicklung ist ein wesentlicher Aspekt in der vorliegenden Arbeit, weshalb ein Schwerpunkt in diesem Kapitel auf die derzeit in der Forschung eingesetzten Plasmaquellen gelegt wird. Zum anderen werden wichtige Forschergruppen genannt und ihre jeweiligen Forschungsschwerpunkte und Erkenntnisse anhand von ausgewählten Publikationen vorgestellt. Da im Rahmen dieser Arbeit Studien mit unterschiedlichen Zielstellungen durchgeführt wurden, wird der jeweilige Stand der Forschung in den Einleitungen zu den einzelnen Publikationen im Kapitel 5 vertieft. Auf dem Gebiet der Plasma-Dekontamination und Plasma-Sterilisation wurden unter Verwendung von Niederdruckplasmen bereits umfangreiche Untersuchungen durchgeführt [79, 80]. Diese Studien liefern zwar grundlegende Erkenntnisse zur Wechselwirkung von Plasmen mit Mikroorganismen, befinden sich jedoch außerhalb des Fokus dieses Kapitels, da sich die Erkenntnisse nicht unmittelbar auf den atmosphärischen Druckbereich übertragen lassen.

Die Plasmamedizin erwuchs aus den biologisch ausgerichteten Aktivitäten verschiedener universitärer und institutioneller Plasma-Forschergruppen. Zunächst innerhalb der Plasma-Community als eine von vielen vielversprechenden Einsatzgebieten der atmosphärischen Niedertemperatur-Plasmen gehandelt, markiert das Jahr 2008 die Wende zur Weiterentwicklung als eigenständiges Forschungsgebiet: In diesem Jahr wurde erstmals der Name „Plasma Medicine“ im Editorial einer Sonderausgabe der Zeitschrift *Plasma Processes and Polymers* sowie im Titel eines Fachartikels verwendet [81, 82]. Motiviert durch das bis dato aufgebaute Verständnis von Niedertemperatur-Plasmen bei atmosphärischem Druck entwickelten die überwiegend in technischen Dis-

ziplinen tätigen Forscher bereits Jahre zuvor die Vision einer medizinisch-therapeutischen Nutzbarmachung dieser Technologie, die sich nun unter einem Dachbegriff zusammenfassen und umsetzen ließ.

Dabei kommt aus technischer Sicht der Entwicklung und Bereitstellung geeigneter Plasmaquellen eine Schlüsselrolle zu. Im Rahmen dieser Forschungsarbeiten werden die Prozessparameter der Quellen bestimmt, um die Betriebssicherheit für den bestimmungsgemäßen Einsatz evaluieren und Korrelationen bei der Wechselwirkung mit biologischen Systemen identifizieren zu können. Die möglichst umfassende Charakterisierung sowie die technische Weiterentwicklung sind die zentralen Tätigkeitsfelder von Physikern und Ingenieuren. Dabei müssen zur Charakterisierung individuelle Strategien entwickelt werden, um den konzeptionellen Besonderheiten der unterschiedlichen Plasmaquellen gerecht zu werden. Dazu werden zunächst die relevanten Prozessparameter definiert und anschließend durch Auswahl geeigneter Methodiken quantifiziert. Durch Biologen und Mediziner werden überwiegend in vitro, zum Teil ex vivo und in bislang eher geringem Umfang in vivo die Wechselwirkungsmechanismen der Plasmen mit biologischen Systemen untersucht, um die Wirk- und Schädigungspotentiale beim Einsatz der Plasmaquellen zu evaluieren. Die stark ausgeprägte Interdisziplinarität des Forschungsgebietes fördert eine synergistische Vernetzung der beteiligten Fachbereiche, die als eines der wichtigsten Elemente die Rückkopplung der in biologischen Testungen gewonnenen Erkenntnisse in die technische Quellenentwicklung ermöglicht. Durch diese Vorgehensweise haben sich bis dato vielversprechende Quellenkonzepte herauskristallisieren können, die sich hinsichtlich der Applikation des Plasmas auf ein biologisches System grob gliedern lassen in

- direkte Quellen (vgl. Abbildung 4.1a), bei denen das plasmaexponierte Gewebe teil des elektrischen Schaltkreises ist (z.B. Volumen-DBE, Corona),
- indirekte Quellen (vgl. Abbildung 4.1b), bei denen das Plasma unabhängig von den elektrischen Eigenschaften des Gewebes an einer Oberfläche bzw. in einer externen Kavität erzeugt wird (z.B. Oberflächen-DBE, Jetanordnung).

Bei den direkten Quellen wird das Plasma unmittelbar im Gasraum zwischen einer Elektrode und einem biologischen System erzeugt, sodass neben den stabilen, langlebigen chemischen Spezies auch die kurzlebigen Spezies (Radikale, Ionen) sowie die starken elektrischen Felder (ca.  $10^6 - 10^8$  V/m) in Wechselwirkung treten können. Konzeptionell sind direkte Quellen für die

Erzeugung des Plasmas auf eine weitere Elektrode angewiesen, wobei beim bestimmungsgemäßen Betrieb das biologische System selbst diese Funktion übernimmt. Da das biologische System somit Teil des elektrischen Kreises ist, wird es von einem elektrischen Strom aus Verschiebe- und Leitungsanteilen durchflossen. Dabei muss der Stromfluss auf ein so geringes Niveau eingestellt sein, dass es nicht zur elektrischen oder thermischen Schädigung der Zellen bzw. des Gewebes kommt. Üblicherweise wird kein zusätzliches Arbeitsgas außer der Umgebungsluft eingesetzt. Eine wesentliche Herausforderung besteht jedoch darin, den Abstand zwischen den Elektroden und daran gekoppelte Prozessparameter unter klinischen Bedingungen reproduzierbar einzustellen. Dazu werden entweder zusätzliche Bauteile (Spacer) eingesetzt oder der Abstand wird durch eine entsprechende Oberflächenstruktur der Hochspannungs-Elektrode sichergestellt. Prinzipbedingt können Prozessgrößen während der Entwicklungsphase der Quellen aufgrund von regulatorischen wie auch konzeptionellen Restriktionen (u.a. Ethikvotum, Messprinzip und -dauer) oft nicht im bestimmungsgemäßen Betrieb gegen eine biologische Gegenelektrode oder am Patienten, sondern lediglich gegen Elektroden aus nicht-biologischen Werkstoffen in Vorbereitung auf klinische Testreihen bestimmt werden.

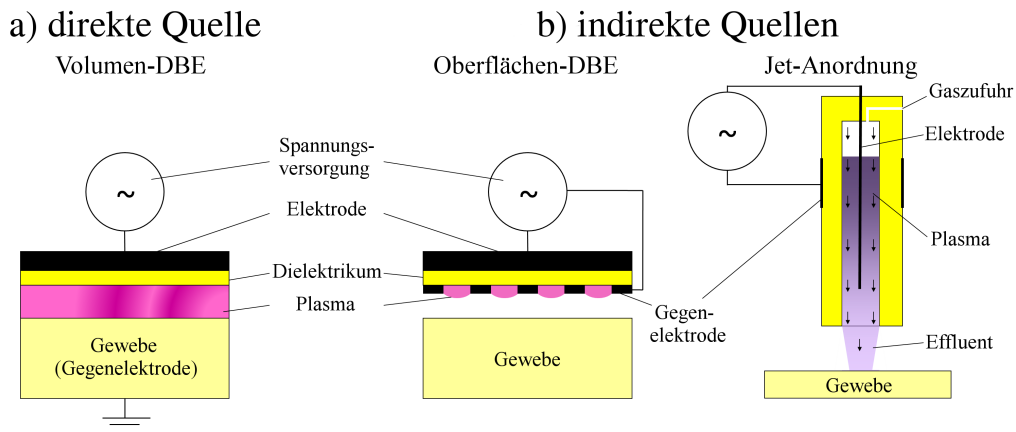


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung für a) die Erzeugung einer Entladung direkt auf der Oberfläche des biologischen Gewebes durch eine Dielektrisch Behinderte Entladung und b) indirekten Gasentladungskonzepten zur Behandlung von Gewebe.

Bei indirekten Quellenkonzepten hingegen wird das Plasma auch ohne eine Implementierung des biologischen Systems in den elektrischen Kreis erzeugt, da bereits alle systemrelevanten Komponenten als technische Elemente ausgeführt sind. Eine Variante bilden Oberflächenentladungen, bei denen sich üblicherweise ein Luft-Plasma entlang einer dielektrischen Oberfläche als Gleitentladung ausbildet. Diese befindet sich in einem Abstand von einigen mm zum biologischen System. Eine Sonderform der Oberflächenentladung stellt der "PlasmaDispenser" dar, auf den in diesem Kapitel noch näher eingegangen werden wird. Bei den deutlich häufiger verwendeten Jet-Systemen lassen sich die Plasmaparameter durch die Gasentladung in einer gekapselten Kavität weitgehend unabhängig von Art und Form des zu behandelnden Objektes einstellen und damit zuverlässig reproduzieren. Darüber hinaus kann durch die Exposition mit dem aus der Kavität strömenden Gas (Effluent) eine formunabhängige Behandlung erzielt werden. Zudem eröffnet sich bei Jet-Systemen durch die Wahl des extern zuzuführenden Arbeitsgases die Möglichkeit, gezielt auf die Reaktionschemie Einfluss zu nehmen. Viele Jet-Systeme werden sogar ausschließlich mit Edelgas betrieben und sind dadurch auf eine entsprechende Gasversorgung angewiesen. Kurzlebige Spezies aus der Plasma-Kavität erreichen die Oberflächen bestenfalls in geringer Konzentration und elektrische Felder stehen als Wirkkomponente kaum zur Verfügung. Im Effluent kommt es zu chemischen Reaktionen zwischen den Teilchen des Arbeitsgases und der umgebenden Luft. Damit entsprechen die Parameter in der Kavität nicht den Parametern des in Wechselwirkung tretenden Effluents, in dem eine deutlich komplexere Plasmachemie herrscht.

Im Jahr 2010 erschien ein Übersichtsartikel, in dem die grundlegenden Quellenkonzepte für therapeutische Anwendungen vorgestellt und schwerpunktmäßig indirekte Plasmaquellen detailliert beschrieben werden [83].

Konzeptübergreifend besteht eine zentrale Herausforderung bei der Entwicklung von Plasmaquellen für den Einsatz an biologischen Systemen darin, die Wärmeeinwirkung des Plasmas bzw. des Effluents auf ein zell- und gewebekompatibles Niveau einzustellen. Dazu wird neben Maßnahmen wie der konvektiven Kühlung durch einen Gasstrom oder durch Einhalten eines Mindestabstands zwischen dem Plasma und der Oberfläche vor allem die gepulste Energieversorgung eingesetzt. Diese Methode ist besonders effektiv, da die Ausbildung von stationären Zuständen weitgehend unterbunden werden kann. Dieser Umstand erfordert im Sinne einer vollständigen Charakterisierung der plasma-physikalischen und -chemischen Prozessparameter streng genommen eine zeit- und ortsauflösende Diagnostik. In der messtechnischen Praxis ist dies methodisch und gerätetechnisch bedingt jedoch nicht im-

mer realisierbar und so werden in der Mehrzahl der Publikationen als relevant identifizierte Prozessparameter z.T. als orts- oder zeitgemittelte Werte angegeben. Die trotz dieser Vereinfachungen immer noch umfangreichen Charakterisierungsaufgaben bilden neben der Weiterentwicklung der Quellen den zweiten großen Schwerpunkt der technisch-physikalisch orientierten Forschungsarbeiten in der aktuellen plasmamedizinischen Forschung.

Die ersten systematischen Untersuchungen zur Wirkung von Atmosphärendruckplasmen auf Mikroorganismen wurden Anfang der 1990er Jahre unter der Leitung von J. R. Roth an der University of Tennessee in Knoxville unter Verwendung einer homogenen Volumen-DBE bei Atmosphärendruck (OAUGD - One Atmosphere Uniform Glow Discharge) durchgeführt [84].

Diese Forschungsthematik wurde dann von M. Laroussi an der Old Dominion University in Norfolk weitergeführt und -entwickelt. Seine Arbeitsgruppe widmete sich seit Mitte der 1990er Jahre neben der Entwicklung von Plasmaquellen nach dem Jet- oder auch Resistive Barrier Discharge (RBD)-Prinzip vor allem mit der Dekontamination von Oberflächen und Untersuchungen zur bakteriziden Wirkung von Atmosphärendruckplasmen [85]. Dabei wurde zunehmend der „Plasma Pencil“ als Plasma-Jet im Betrieb mit Helium bei Volumenströmen von 30-130 cm<sup>3</sup>/s eingesetzt. Elektrisch wird das System mit Hochspannungspulsen von ca. 500 ns Dauer bei Frequenzen von 1-10 kHz und Amplituden bis zu 6 kV betrieben, sodass sich eine mittlere Leistung von 1-3 W einstellt [86]. Ein Schwerpunkt der Untersuchungen, allerdings auch unter Verwendung der anderen Plasmaquellen, liegt auf der Aufklärung von Mechanismen bei der Plasma-Inaktivierung von Mikroorganismen [87, 88, 89, 90]. Daneben konnte in vitro auch eine dosisabhängige Abtötung von Leukämie-Zellen durch den „Plasma Pencil“ beobachtet werden [91].

E. Stoffels und ihre Gruppe an der Technischen Universität Eindhoven stellten im Jahr 2002 die sogenannte „Plasma Needle“ vor. Diese überwiegend mit Helium bei Volumenströmen von 8-30 cm<sup>3</sup>/s betriebene Plasmaquelle erzeugt bei einer Anregungsfrequenz von 13,56 MHz, Spannungsamplituden bis zu 400 V und elektrischen Leistungen von einigen mW bis ca. 10 W eine Glimmentladung an der Spitze einer metallischen Elektrode, die einen Jet von bis zu 4 mm Länge im ausströmenden Helium zur Folge hat [92]. Dabei kann ein signifikanter Anteil an Stickoxiden produziert werden [93]. Mit dieser Quelle wurde Pionierarbeit zur Wirkung von Atmosphärendruckplasmen auf Zellen und biologisches Gewebe geleistet [94]. Für die „Plasma Needle“ wurde zunächst die Biokompatibilität nachgewiesen. In weiterführenden Studien konnte abhängig von den Behandlungsparametern eine nekrotische oder

nicht-nekrotische Wirkung auf Gefäßzellen beobachtet werden. Die ebenfalls untersuchte Zellablösung wurde auf eine elektrostatische Wechselwirkung der Zellen mit dem Plasma zurückgeführt [95, 96]. Mittlerweile wird dieser Forschungsbereich von G. M. W. Kroesen weitergeführt, der sich zunächst der numerischen Charakterisierung der „Plasma Needle“ gewidmet hatte [97].

Die Arbeitsgruppe um W. Viöl an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst (HAWK) in Göttingen zählt zu einer der ersten Gruppen, die sich der plasmamedizinischen Forschung für Anwendungen im Bereich der Dermatologie auf Basis einer Volumen-DBE widmete und bereits im Jahr 2003 ein Patent (WO 2004/105810 A1) auf die Behandlung von biologischem Gewebe anmeldete. Dabei kamen zunächst Quellen mit unterschiedlichen Geometrien und dielektrischen Materialien zum Einsatz, die mit verschiedenen elektrischen Parametern auf Basis selbstentwickelter Schaltungen betrieben wurden. Die Energie wird dabei durch gepulste Hochspannungssignale mit Amplituden bis zu 20 kV und Wiederholfrequenzen von einigen 100 Hz in die Umgebungsluft zwischen dem Dielektrikum und einer biologischen Gegen Elektrode eingekoppelt. Während im Jahr 2005 eine Studie zur kosmetischen Applikation eines Atmosphärendruckplasmas bei einer Leistung von 0,25 W publiziert wurde, konnten im Jahr 2007 bereits Sicherheitsaspekte bei der Plasmaexposition von Haut durch eine batteriebetriebene Plasmaquelle mit einer elektrischen Leistung von 2 W sowie in vitro-Ergebnisse zur Behandlung menschlicher Zellen (HaCaT) vorgestellt werden [98, 99]. Im Jahr 2006 wurde im Rahmen eines Spin-Offs die gerätetechnische Entwicklung zum „PlasmaDerm“ ausgelagert. Diese Volumen-DBE kann mit gedämpften, sinusförmigen Pulspaketen bei Amplituden bis zu 17 kV und Pulsdauern von einigen 10  $\mu$ s bei einer Pulswiederholfrequenz von 300 Hz mit der Umgebungsluft als Arbeit gas betrieben werden. Die Elektrodenfläche beträgt 0,78 cm<sup>2</sup> und die Leistungen liegen bei einigen 10-100 mW.

Im Jahr 2011 wurde durch S. Emmert an der Universitätsmedizin in Göttingen die weltweit erste klinische Prüfung zur Behandlung des Ulcus cruris\* mit einer direkten Plasmaquelle unter Verwendung des „PlasmaDerm“ durchgeführt. Die Ergebnisse sind bisher noch nicht publiziert. Zu Beginn des Jahres 2013 erhielt der „PlasmaDerm“ nach einem erfolgreichen Zertifizierungsverfahren die Zulassung zum Medizinprodukt der Risikoklasse IIa<sup>7</sup>.

Die Arbeitsgruppe der Drexel University in Philadelphia unter Leitung von A. Fridman berichtete erstmalig im Jahr 2005 auf amerikanischen Tagungen

---

<sup>7</sup>Medizinprodukte werden in 4 Risikoklassen (I, IIa, IIb, III) unterteilt, wobei der Klasse IIa Produkte mit einem mäßigen Anwendungsrisiko zugeordnet werden.

vom Einsatz nicht-thermischer Plasmen auf lebendem Gewebe [100]. Schwerpunktmäßig werden in den Arbeiten dieser Gruppe ebenfalls Volumen-DBE bei atmosphärischer Luft eingesetzt, die als „FE-DBD“ (Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge) bezeichnet werden. In einem Artikel aus dem Jahr 2006 konnten die Autoren zeigen, dass durch den Einsatz dieser Plasmaquelle bei Spannungsamplituden von 20 kV, einer Pulswiederholfrequenz von 10 kHz und Leistungsdichten von ca. 1 W/cm<sup>2</sup> in Abständen von einigen mm zur Objektoberfläche die Blutgerinnung deutlich beschleunigt werden kann. Zudem konnten Bakteriengemische, welche zuvor der menschlichen Haut entnommen und kultiviert wurden, in vitro auf Blutagar-Böden\* binnen weniger Sekunden inaktiviert werden [101]. Im Jahr darauf wurde eine Arbeit veröffentlicht, in der nach den Mechanismen der plasmainduzierten Blutkoagulation geforscht wurde [102]. Die bakterizide Effizienz des Plasmas steht gemäß den Studien dieser Gruppe unter anderem mit der Anwesenheit geladener Spezies in Zusammenhang [103]. Dass die bakterizide Wirkung des DBE-Plasmas nicht nur auf Oberflächen sondern auch bei Mikroorganismen in einem Luft-Volumenstrom wirksam ist, konnte im Jahr 2007 gezeigt werden [104]. Um die bakterizide Wirksamkeit des Plasmas auch bei solchen Mikroorganismen nachzuweisen, die auf Grund ihrer hervorragenden Anpassung an extreme Bedingungen nur schwer abzutöten sind, wurden erfolgreich Untersuchungen an *Deinococcus radiodurans* durchgeführt [105]. Im Jahr 2010 konnten mit einer ähnlichen Plasmaquelle planktonische Bakterien sowie Biofilme des Methicillin-resistenten\* *Staphylococcus aureus* inaktiviert werden [106].

Bereits im Jahr 2007 wurde über die erfolgreiche in vitro-Inaktivierung von Melanom-Zelllinien berichtet. Die im Wachstumsmedium befindlichen Zellen wurden mit der „FE-DBD“ bei Leistungsdichten von 0,8-1,4 W/cm<sup>2</sup> ( $P=4\pm 1$  W) behandelt. Anschließend konnte sowohl nekrotische\*<sup>8</sup> als auch apoptotische\* Ereignisse an den Zellen nachgewiesen werden [107].

Im Jahr 2009 wurden die jeweils komplexen Mechanismen der Plasmaphysik und der Zellbiologie in ein generelles, vorläufiges Muster gefasst, um eine Selektivität der Plasmawirkung auf eukaryotische\* und prokaryotische\* Zellen zu erarbeiten [108]. Ebenfalls im gleichen Jahr wurde die bakterizide Effizienz von Plasmen mit unterschiedlichen elektrischen Betriebsparametern untersucht. Dabei war zu erkennen, dass sich durch eine Erhöhung der Flankensteilheit der Versorgungsspannung ein gleichmäßigeres Entladungsbild erzeugen lässt, welches wiederum bei unebenem Untergrund die bakterizide Effizienz erhöhen kann [109, 110]. Weiterführend wurde der Einfluss der zeitlichen Charakteristik des Spannungssignals auf die Wärmeentwicklung im

---

<sup>8</sup>Fachbegriffe sind gekennzeichnet (\*) und werden im Glossar unter Anhang A erläutert.



Plasma untersucht [111].

Als wichtiger Beitrag zählt der Nachweis, dass die Zellproliferation von Endothelzellen (Blutgefäßzellen) durch die Exposition mit einem gepulsten DBE-Plasma gesteigert werden kann [112]. Bei in vitro-Untersuchungen zur Charakterisierung der Wechselwirkung mit Säugetierzellen umgeben von Flüssigmedium konnte eine dosisabhängige Wirkung beobachtet werden, die von der Stimulation der Zellproliferation bis hin zur Einleitung apoptotischer Ereignisse reichte. Die Effekte wurden ursächlich auf die Bildung von intrazellulären reaktiven Sauerstoffspezies zurückgeführt [113]. In einer weiterführenden Arbeit wurde durch einen komparativen Studienansatz die Wirkung derselben Plasmaquelle mit einer reinen Ozon-Exposition der Zellen verglichen. Dabei kamen die Autoren zu dem Schluss, dass die während der Plasmaexposition auftretenden DNA-Schädigungen im Wesentlichen nicht auf das im Plasma erzeugte Ozon zurückzuführen sei [114].

Durch das Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V. (INP) in Greifswald unter der Leitung von K.-D. Weltmann wurde im Jahr 2005 ein Plasma-Jet-System (Atmospheric Pressure Plasma Jet bzw. APPJ) vorgestellt, das zur nicht-thermischen Oberflächenbehandlung eingesetzt werden kann [115]. In den Jahren 2007 und 2008 wurden u.a. zwei Arbeiten veröffentlicht, in denen neben dem APPJ noch weitere Plasmaquellen erfolgreich zur Dekontamination von *Bacillus atrophaeus*-Sporen, *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* auf wärmeempfindlichen Materialien der Medizintechnik eingesetzt wurden [116, 117]. Das APPJ-Konzept wurde später zum „kINPen 09“ weiterentwickelt, der für verschiedenste Anwendungen in Medizintechnik und pharmazeutischer Industrie eingesetzt werden sollte. Als mobiles Handgerät ausgeführt erfolgt die Energieversorgung bei Eingangsleistungen von bis zu 8 W durch eine sinusförmige Anregung mit Amplituden bis zu 3 kV bei einer Frequenz von 1,1 MHz. Durch einen optionalen Burst-Betrieb, bei dem das Signal zusätzlich gepulst wird, kann der thermische Einfluss des Plasmas signifikant reduziert werden. Mit Argon bei Volumenströmen von bis zu 80 cm<sup>3</sup>/s betrieben erzeugt diese Quelle einen Jet mit einer Länge von bis zu 12 mm bei einem Durchmesser von etwa 1 mm [118].

Ab dem Jahr 2006 startete angegliedert an das INP die Initiative „plasmatis“, um durch systematische Grundlagenforschung die Wechselwirkung zwischen physikalischem Plasma und lebenden Zellen zu erforschen [119]. Im Jahr 2008 wurde dann der Forschungsverbund „Campus PlasmaMed“ als weltweit einzigartiger interdisziplinärer Zusammenschluss von sechs Partnern aus universitärer und institutioneller Forschung initiiert. Dessen Forschungsschwerpunkte sind deutlich anwendungsorientierter ausgerichtet und umfassen in den Leitthemen plasmabasierte Verfahren:

- zur Entfernung von Biofilmen,
- für den Einsatz im Dentalbereich,
- für biofunktionale Beschichtungen,
- zur Dekontamination in der Pharmazeutik,
- zu antiseptischen Therapien von Wunden,
- für dermatologische Therapien,
- zur Hautregeneration und Wundheilung,
- zu Beleuchtungseinflüssen auf die Gesundheit.

Im Jahr 2010 konnte in Untersuchungsreihen mit einer Oberflächen-DBE ein Zusammenhang zwischen der bakteriziden Effizienz bei der Inaktivierung von *Bacillus atrophaeus*-Sporen und der Luftfeuchtigkeit sowie der Einsäuerung des Mediums nachgewiesen werden [120, 121].

Im Jahr 2009 wurde am Beispiel des „kINPen 09“ ein Charakterisierungskonzept für plasmamedizinische Quellen hinsichtlich der Risikofaktoren und des in vitro-Wirksamkeitsnachweises propagiert [118]. Die bakterizide Wirksamkeit des „kINPen 09“ sowie die Unbedenklichkeit für dermatologische Anwendungen wurde auf Basis von in vitro-Daten prognostiziert [122, 123].

Erste in vivo-Daten zur Wirkung des „kINPen 09“ auf den antioxidativ wirkenden Hautbestandteil Beta-Carotin sowie hautphysiologische Parameter wurden durch diesen Verbund im Jahr 2012 publiziert. An sieben gesunden Probanden wurden eine Absenkung der Beta-Carotin-Konzentration in der äußeren Hautschicht (*Stratum corneum*) und ein Anstieg des transepidermalen Wasserverlustes beobachtet. Dieser Einfluss auf die Hautphysiologie erfolgte ohne Schädigung des Hautgewebes [124]. Ähnliche Ergebnisse wurden an vier Probanden beim Einsatz des „kINPen 09“ in zwei unterschiedlichen Betriebsmodi und einer Volumen-DBE erzielt [125]. Bei der in vivo-Inaktivierung einer physiologischen und einer künstlich kontaminierten Hautflora wurde sowohl für den „kINPen 09“ als auch eine Volumen-DBE eine signifikante Reduzierung der Bakterienlast (Log-Reduktionsfaktor von bis zu 1,7 nach 90 s Behandlungsdauer) nachgewiesen. Gleichzeitig wurde die Behandlung durch beide Plasmaquellen von den Probanden gut toleriert [126]. Klinische Daten zur Wirksamkeit des mittlerweile zum „kinpen MED“ weiterentwickelten Plasma-Jets bei der Wundheilung wurden ebenfalls im Jahr 2012 publiziert. Dabei waren zunächst fünf Probanden unter kontrollierten Bedingungen jeweils vier Wunden am Unterarm zugefügt worden, die

anschließend in verschiedenen Mustern (Kontrolle, 1x10 s Exposition, 1x30 s Exposition und 10 s Exposition an drei aufeinanderfolgenden Tagen) mit dem Argon-Plasma behandelt wurden. Der Heilungsfortschritt wurde nach 10 Tagen in einem verblindeten Studienlayout unter ästhetischen Gesichtspunkten anhand der Farbe und Struktur der Wunde gegenüber dem gesunden Gewebe bewertet. Dabei konnten durch die wiederholte Plasmaapplikation für jeweils 10 s die besten regenerativen Fortschritte erzielt werden [127]. Eine Bewertung des Heilungsergebnisses wurde nach 6 bzw. 12 Monaten durch 17 unabhängige Beobachter unter Verwendung eines differenzierteren Schemas erneut vorgenommen. Neben der Erkenntnis, dass sich die Plasmabehandlung am deutlichsten auf die frühe inflammatorische\* Phase der Wundheilung (nach 10 Tagen) auszuwirken scheint, konnte als wichtiges Ergebnis gezeigt werden, dass bis zu 12 Monate nach der Plasmaexposition keine präkanzerösen\* Veränderungen des Hautgewebes nachzuweisen sind [128]. Im Mai 2013 erhielt auch der „kinpen MED“ die Zulassung als Medizinprodukt der Klasse IIa.

Die Arbeitsgruppe um G. E. Morfill vom Max-Planck-Institut für extraterrestrische Physik in Garching stellte auf der ersten International Conference on Plasma Medicine (ICPM 1) im Jahr 2007 in Corpus Christi den „Micro-PlaSter“ zur in vivo-Antiseptik\* vor. Der mikrowellenangeregte Plasma-Jet des japanischen Herstellers Adtech Plasma Technology Co., Ltd. wird mit Argon bei einem Volumenstrom von 30-50 cm<sup>3</sup>/s betrieben und weist bei einer Frequenz von 2,45 GHz eine elektrische Eingangsleistung von ca. 80 W auf. Als erste Arbeitsgruppe weltweit wurde mit diesem Jet-System bereits im Jahr 2005 eine klinische Studie am Menschen zur antiseptischen Wirkung des Argon-Plasmas auf chronische Wunden in Deutschland gestartet. Auf der Tagung konnten Ergebnisse zum Nachweis der Sicherheit und Verträglichkeit dieser Plasmaquelle bei unterschiedlichen Behandlungszuständen präsentiert werden [129]. In einer Arbeit zur Charakterisierung dieser Quelle, in der einige physikalische Parameter vor allem aber die Wirkung auf *Escherichia coli*-Bakterien in vitro untersucht wurden, kam der Autor zu dem Schluss, dass die UV-Strahlung der dominierende Mechanismus bei der bakteriziden Wirkung dieser Quelle sei [130]. Diese These wurde jedoch mit aktualisierten Daten in einer weiteren Publikation wieder verworfen [131]. Eine weitere Arbeit zur Anwendung dieser Plasmaquelle weist mit mikroskopischen Techniken strukturelle Schäden an den Zellwänden von plasmabehandelten gram-negativen\* Bakterien (*Escherichia coli*) und gram-positiven\* Bakterien (*Staphylococci*) nach 3-minütiger Behandlung auf [132].

Im Jahr 2009 wurde eine neu entwickelte Plasmaquelle mit der Bezeichnung „PlasmaDispenser“ vorgestellt, die einen alternativen Ansatz zur gebräuchlichen aber oft unzulänglichen Flüssigdesinfektion der Hände im klinischen

Sektor bilden soll [133]. Bei dieser Plasmaquelle handelt es sich um ein rechteckiges, nur zu einer Seite offenes Gehäuse, in das an der Ober- und Unterseite Plasmaelektroden mit einer Fläche von  $200\text{ cm}^2$  in einem relativen Abstand von 4 cm eingebracht sind. Das Elektrodendesign besteht aus einer massiv ausgeführten Metallelektrode, die durch eine Teflonschicht von dem als geerdete Gegenelektrode fungierendem Metallgitter an der Oberseite der „Sandwich-Elektrode“ getrennt ist. Das Plasma entsteht bei dieser als „BCD- barrier corona discharge“ bezeichneten Anordnung in den quadratischen Flächen des metallischen Gitters in Form einer Gleitentladung. Trotz sinusförmiger Anregung mit Amplituden von 9 kV, einer Frequenz von 12,5 kHz und einer Leistung von ca.  $0,5\text{ W/cm}^2$  ist der Stromfluss in die im Gehäuse befindliche Hand minimal, da der Strom praktisch vollständig über die geerdete Gitterelektrode abfließen kann.

Im Jahr 2010 wurden erfolgreiche Zwischenergebnisse beim klinischen Einsatz (Phase II, Proof of concept) des „MicroPlaSter“ publiziert. Dabei konnte im klinischen Maßstab erstmals in vivo demonstriert werden, dass die bakterielle Besiedelung chronischer Wunden durch die Einbettung einer 5-minütigen Plasmaexposition pro Tag in den Therapieplan signifikant um 34 % reduziert werden kann. Zudem wurden keine Nebenwirkungen beobachtet [134]. In einer weiterführenden Studie wurde das Studienlayout insofern verändert, als das die Behandlungsdauer nun auf 2 Minuten reduziert und ein komparativer Studienzweig unter Verwendung einer weiterentwickelten Geräteversion, dem „MicroPlaSter beta“, hinzugefügt wurde. Der „MicroPlaSter beta“ weist die gleichen Plasma-Prozessparameter auf und unterscheidet sich lediglich durch eine kompaktere Bauweise und flexiblere Mechanik von seinem Vorgänger. In beiden Studienzweigen konnten signifikante Reduzierungen der Bakterienpopulationen von 40 % durch den „MicroPlaSter alpha“ und 23,5 % durch den „MicroPlaSter beta“ ebenfalls ohne Auftreten von Nebenwirkungen belegt werden [135].

Die Arbeitsgruppen um J. M. Pouvesle an der Université d’Orleans in Frankreich hat mit der „Plasma Gun“ eine flexible Plasmaquelle entwickelt, die ein Atmosphärendruckplasma bis zu 50 cm entfernt von der Hochspannungsversorgung bereitstellen kann [136]. Die Energieeinkopplung erfolgt durch eine koaxiale DBE-Anordnung, die wie bei einem klassischen Jet-System aus einer äußeren Ringelektrode und einer inneren Stabelektrode besteht. An diese Elektrodengeometrie, die mit Hochspannungspulsen in Form gedämpfter sinus-ähnlicher Signale bei Amplituden bis zu 55 kV, Pulsdauern von ca.  $10\text{ }\mu\text{s}$  und Wiederholfrequenzen bis zu 100 Hz betrieben wird, können beidseitig dielektrische Kapillaren (u.a. aus Polyamid) angeflanscht werden. Diese führen nicht nur das Arbeitsgas (Helium oder Neon) bei einem Volumenstrom von

1,7 cm<sup>3</sup>/s, sondern bilden zugleich die dielektrische Barriere zwischen den beiden Elektroden. Innerhalb der flexiblen Kapillare propagiert das Plasma mit sehr hohen Geschwindigkeiten von  $10^7 - 10^8$  cm/s in Form sogenannter „plasma bullets“. Am offenen Ende der Kapillare treten sogenannte „plasma plumes“ von bis zu einigen cm Länge in die umgebende Luft aus, mit denen dann biologische Systeme behandelt werden können.

Neben der „Plasma Gun“, die als nicht-typischer Vertreter von Jet-Systemen verstanden werden kann, wird zur Realisierung komparativer Studiendesigns auch eine direkte FE-DBD eingesetzt. Auch diese Quelle wird mit gepulsten Hochspannungssignalen mit Pulsdauern im Bereich von  $\mu$ s bei Amplituden bis zu 23 kV und Pulswiederholfrequenzen bis zu 2000 Hz betrieben.

Die Applikation der FE-DBD-Quelle mit einer Elektrodenfläche von 2,5 cm<sup>2</sup> und 4 W Eingangsleistung bei einer Frequenz von 100 Hz wurde im Mausmodell mit umgebender Luft als Arbeitsgas gut vertragen. Die Versuchstiere wurden mit der U87-MG Glioma-Zelllinie versehen und als in vivo-Tumormodell eingesetzt. Während der Behandlung konnten ein Absinken des kutanen pH-Wertes sowie eine leichte Erhöhung der subkutanen Temperatur der Mäuse beobachtet werden. Die Autoren der Studie führen diese beiden Faktoren in Kombination mit den starken elektrischen Feldern als mögliche Gründe dafür an, dass sowohl Tumoraktivität und -volumen bei den Versuchstieren in der Plasmagruppe gegenüber der Kontrollgruppe deutlich geringer ausgeprägt zu sein schien [137]. In einer weiteren Studie unter Verwendung einer FE-DBD mit einer Elektrodenfläche von 0,78 cm<sup>2</sup> und einer elektrischen Leistung von 0,52 W (entspricht 0,66 W/cm<sup>2</sup>) bei einer Frequenz von 2000 Hz konnte sowohl in vitro als auch in vivo eine apoptotische Wirkung auf die Krebszellen und ein signifikant geringeres Tumorstadium belegt werden [138].

An der George Washington University in Washington forscht M. Keidar ebenfalls auf dem Gebiet der Tumorbehandlung mittels Atmosphärendruckplasmen. Seine Arbeitsgruppe setzt einen heliumbetriebenen Plasma-Jet mit sinusoidal oszillierendem Spannungsverlauf bei Amplituden bis zu 10 kV und Frequenzen von 15-30 kHz ein. Die Strompulse erreichen bei einer Dauer von einigen  $\mu$ s Amplituden von ca. 10 mA und der Gasstrom beträgt ca. 280 cm<sup>3</sup>/s [139]. Bei der Exposition unterschiedlicher Tumorzellen durch den etwa 4 cm langen Plasma-Jet dieser Plasmaquelle konnte in vitro eine Ablation der Zellen nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde nach einer einmaligen, für 2 min durchgeführten Behandlung in vivo die Zerstörung eines Tumors am Mausmodell demonstriert. Gleichzeitig kam es nicht zu einer thermischen Schädigung des umliegenden Gewebes. Die Autoren führten diese Selektivität der Plasmawirkung auf die unterschiedlichen Zellzyklen bei

gesunden Zellen und Tumorzellen zurück [140].

Die Arbeitsgruppe um M. G. Kong von der Loughborough University in England widmet sich unter Verwendung verschiedener Jet-Systeme schwerpunktmäßig der Dekontamination und den zugrunde liegenden Mechanismen bei der Exposition von Mikroorganismen. Dabei wurde auch der Einfluss der Plasmabehandlung auf die Methicillin-Resistenz bestimmter Erreger untersucht [141, 142, 143, 144]. Aus der Arbeitsgruppe wurde auch eine Plasmaquelle für eine großflächige, medizinische Anwendung vorgeschlagen, die aus einem skalierbaren Array aus derzeit sieben Plasma-Jets besteht. Ein Schwerpunkt dieser Untersuchungen lag zum Einen auf den Jet-Oberfläche-Wechselwirkungen, zum Anderen wurde auch die Wechselwirkung der sieben Jets untereinander untersucht [145].

Durch J. F. Kolb und K. H. Schoenbach wurde an der Old Dominion University in Norfolk ein Plasma-Jet für medizinische Anwendungen entwickelt. Dieses System weist gegenüber den bisher genannten technischen Umsetzungen die Besonderheit auf, dass der mit bis zu 2 cm Länge austretende Jet mit Hilfe einer Mikro-Hohlkathodenentladung generiert wird, durch die atmosphärische Luft geleitet wird. Zudem wird das Elektrodensystem mit Gleichspannung bei Amplituden zwischen 1,5 kV und 2,5 kV sowie elektrischen Strömen bis zu 20 mA betrieben, wobei weniger als 10 W Leistung in das Plasma dissipieren. Abhängig vom Volumenstrom zwischen  $1,3 \text{ cm}^3/\text{s}$  und  $133 \text{ cm}^3/\text{s}$  stellt sich ein laminares oder turbulentes Strömungsverhalten ein und innerhalb weniger mm Abstand zur Hohlkathodenöffnung kann die Gastemperatur auf Raumtemperatur-Niveau abfallen. Bei einem Abstand von 1 cm zur Entladung war auf einer Fläche von  $1 \text{ cm}^2$  nach 90 s eine Inaktivierung der Hefe *Candida kefyr* zu erzielen, während in vivo am Mausmodell selbst nach 10-fachem Abfahren des Rasters keine thermische Schädigung oder sonstige Unterschiede zwischen unbehandelten und behandelten Hautarealen festgestellt werden konnten [146].

Im Bereich der numerischen Modellbildung sind besonders die Aktivitäten von M. Kushner von der University of Michigan in Ann Arbor und D. B. Graves von der University of California in Berkley hervorzuheben. In ihren Arbeitsgruppen entstanden Arbeiten, in denen die komplexen und damit messtechnisch kaum vollständig erfassbaren plasmaphysikalischen und -chemischen Aspekte der grundlegenden Wechselwirkung von Plasmen mit biologischem Gewebe zeit- und orts aufgelöst modelliert werden.

So wurde unter anderem die Wechselwirkung einer filamentierten DBE mit Haut computerbasiert modelliert, indem ein zweidimensionales Modell ei-

ner gepulsten Gasentladung mit einer Pulswiederholfrequenz von 2 kHz in Luft unter Berücksichtigung eines Substanzdefektes der Epidermis aufgebaut wurde [147]. Dabei wurde der Einfluss von flüssigen Wundsekreten zunächst vernachlässigt. Die Autoren schließen aus ihren Ergebnissen, dass sich die relative Position der einzelnen Streamer zur Wunde eher in inhomogenen Teilchenflussdichten von Ionen und Photonen als der Radikale auswirkt, da sich die Flüsse von neutralen Radikalen bei ausreichender Behandlungsdauer durch Diffusionsvorgänge zwischen den einzelnen Pulsen zunehmend homogenisieren können.

Es existieren darüber hinaus noch eine Reihe weiterer Arbeitsgruppen im asiatischen, ost-europäischen und nordamerikanischen Raum, die zum Teil eigene Plasmaquellen entwickelt haben und einsetzen. Allerdings lassen sich hier entweder noch keine geschärften Forschungsprofile erkennen oder die Arbeitsschwerpunkte und Applikationen sind weitgehend durch die Vorstellung der Arbeiten anderer Forschergruppen in diesem Kapitel abgebildet.

Grundsätzlich ist die Plasmamedizin während der Anfertigung dieser Arbeit zunehmend in den Fokus internationaler Forschung getreten, was sich vor allem darin bemerkbar macht, dass eine zunehmende Anzahl an nicht-thermischen Plasmaquellen in unterschiedlichsten Studienlayouts für ein immer breiter werdendes Anwendungsspektrum in der Medizin(-technik) und der Biologie eingesetzt werden. Daher ist seit Jahren eine kontinuierlich ansteigende Zahl an Publikationen in diesem Forschungsgebiet zu verzeichnen. Um diesem Umstand gerecht zu werden, haben namhafte wissenschaftliche Journale wie *Plasma Processes and Polymers* (2008 & 2010) sowie *New Journal of Physics* (2009) dem Themenkomplex Sonderausgaben gewidmet und es existieren mittlerweile mehrere Übersichtsartikel zum jeweils aktuellen Stand der Forschung [82, 148, 149, 150]. Ein gemeinsamer Forschungsaspekt der meisten Arbeitsgruppen ist die antimikrobielle Wirksamkeit der Atmosphärendruckplasmen sowie deren zu Grunde liegenden bio-chemikalischen und -physikalischen Mechanismen. In den Jahren 2012 und 2013 sind schließlich die ersten beiden Fachbücher zu dem Themenkomplex erschienen [151, 152].

Die für das Jahr 2014 geplante fünfte Auflage der Fachkonferenz „International Conference on Plasma Medicine (ICPM)“ sowie die Bildung der „International Society of Plasma Medicine (ISPM)“ im Jahr 2009 kennzeichnen ebenso wie die Initiierung spezifischer Fachzeitschriften, „Plasma Medicine“ im Begell House Verlag mit Erstausgabe im Jahr 2011 sowie „Clinical Plasma Medicine“ im Elsevier-Verlag mit Erstausgabe im Jahr 2013 wichtige strukturelle Maßnahmen zur Etablierung und Weiterentwicklung dieses viel-

versprechenden und komplexen Forschungsgebietes [153, 154].

Mit der Abbildung 4.2 wird im Rahmen dieser Arbeit der Versuch unternommen, die vielschichtigen Aktivitäten der internationalen plasmamedizinischen Forschungsaktivitäten systematisch in eine Struktur zu fassen. Dabei soll der aktuelle Stand der Forschung durch eine relative Kennzeichnung („0“ = kaum/wenig Daten bis „+++“ = viele Daten) des jeweiligen Studienggebietes qualitativ widerspiegelt werden.

<div> <div>Plasmaquelle</div> <div>Studiendesign</div> </div>			indirekt		direkt	
			Luft	Edel-gas	Luft	Edel-gas
Quellen-Charakterisierung und Risikoanalyse	technisch	messtechnisch	+	+++	++	0
		numerisch	+	++	++	0
	in vivo	Tiermodell	0	+	++	0
		Humanmedizin	0	+	+	0
biologische/medizinische Wirksamkeit	in vitro	Mikroorganismen	+	+++	+++	+
		Säugetierzellen	0	++	++	0
	in vivo	Tiermedizin	0	++	0	0
		Humanmedizin	0	++	+	0

Abbildung 4.2: Qualitative Darstellung des aktuellen Stands der Forschung innerhalb einer systematisierten plasmamedizinischen Forschungsstruktur. Die verfügbare Datenlage ist relativ zueinander klassifiziert und wird durch eine Kennzeichnung zwischen „0“ (kaum/wenig Daten) bis „+++“ (viele Daten) symbolisiert.



# Kapitel 5

## Wissenschaftliche Publikationen

In diesem Kapitel befinden sich die wissenschaftlichen Publikationen, die im Rahmen des Promotionsvorhabens entstanden sind. Der Einsatz von Volumen-DBE-Plasmen am lebenden Patienten für therapeutische Anwendungen im Bereich der Dermatologie bildet dabei die übergeordnete Zielstellung und Motivation der einzelnen Arbeiten, wodurch sich ein inhaltlicher Zusammenhang im Kontext dieser bestimmungsgemäßen Anwendung der Plasmatechnologie ergibt.

Die Volumen-DBE zählt wie im vorangegangenen Kapitel beschrieben zu den direkten Plasmaquellen. Dem biologischen Gewebe kommt bei diesem Quellentyp die Funktion der Gegenelektrode zu, wodurch entsprechende technische Geräte als Ein-Elektroden-Systeme konzipiert werden. Da jedoch während der Forschungsarbeiten mit ersten Funktionsmustern die ethischen und rechtlichen Voraussetzungen für die Anwendung an lebendem Gewebe (bestimmungsgemäße Anwendung) noch nicht erfüllt sind, dürfen Studien in diesem frühen Forschungsstadium nicht an Tieren oder Menschen durchgeführt werden. Für die Erzeugung und Bereitstellung des Plasmas sind diese Plasmaquellen dennoch auf mindestens eine weitere Elektrode angewiesen, wodurch der Auswahl geeigneter Modell-Gegenelektroden für sämtliche Untersuchungen in der nicht- bzw. präklinischen Forschungsphase eine elementare Bedeutung zukommt. Während damit einerseits die Erkenntnisse nicht unmittelbar auf den direkten Einsatz am Menschen übertragbar sind, eröffnen sich andererseits experimentelle Möglichkeiten zur Bestimmung von Prozessparametern, die wiederum während der bestimmungsgemäßen Anwendung am Patienten messtechnisch nicht zugänglich wären.

Sämtliche Studien innerhalb dieses Kapitels sind in der nicht-klinischen Forschungsphase angesiedelt. Somit sind die experimentellen Untersuchungen unter Verwendung von Modell-Gegenelektroden konzipiert und widmen sich spezifischen Aspekten aus den folgenden plasmamedizinischen Forschungsschwerpunkten:

- Identifikation von Wirkpotentialen sowie Aufklärung der Mechanismen,
- Untersuchungen zur Anwendungssicherheit von Volumen-DBE-Quellen an der menschlichen Haut.

Die Ergebnisse zu Wirkpotentialen sowie Erkenntnisse über die zu Grunde liegenden Mechanismen fließen in eine Datenbasis ein, anhand derer aussichtsreiche Indikationen für die plasmabasierte klinische Therapieentwicklung abgeleitet werden können. Die in Kapitel 5.1, 5.2 und 5.3 aufgeführten Publikationen sind schwerpunktmäßig auf diese Zielstellung ausgerichtet. Grundlegend für die direkte Anwendung entsprechender Plasmaquellen am Patienten ist jedoch auch die Gewährleistung der Verfahrenssicherheit mit Blick auf akute Gewebeschädigungen, langfristig auftretende Irritationen sowie Gefahrenpotentiale für den Anwender selbst. Die Publikation in Kapitel 5.4 widmet sich diesen Sicherheitsaspekten durch eine umfangreiche physikalische Charakterisierung und anschließende Evaluierung der Betriebs- und Prozessparameter.

Die fachliche Einbettung der Publikationsschwerpunkte in den jeweils aktuellen Stand der Forschung wird in den folgenden Unterkapiteln innerhalb einer kurzen Einleitung erfolgen. Die individuellen Beiträge des Verfassers an den Publikationen sind im Anhang C dieser Arbeit ausgewiesen. Die Zusammenführung und Diskussion der Teil-Ergebnisse im Kontext einer plasmamedizinischen Anwendung der Volumen-DBE zur Therapie von Hauterkrankungen erfolgt im Kapitel 6.

## **5.1 Einfluss einer Volumen-DBE auf den pH-Wert bei der Behandlung artifizieller Haut-Lipid-Modelle**

Der Wund-pH-Wert beeinflusst direkt und indirekt alle biochemischen Reaktionen und ist somit als ein optimierender Faktor für die Wundheilung anzu-

sehen [155, 156]. Damit stellt die Beeinflussung des pH-Werts im Rahmen einer therapeutischen Verfahrensentwicklung auf Basis nicht-thermischer Plasmen einen interessanten Forschungsaspekt dar.

Um sowohl die Wirkung als auch die Mechanismen in einem reproduzierbaren Rahmen studieren zu können wurde ein künstlicher Modellansatz entwickelt, bei dem tierische und humane Hydro-Lipid-Filme auf einem Glasobjektträger oberhalb einer geerdeten metallischen Flächenelektrode angeordnet sind. Erst durch diesen experimentellen Aufbau können die Hydro-Lipid-Filme einer Plasmabehandlung unterzogen werden. Diesem relativ simplen Modellansatz liegt das Konzept zur Plasmabehandlung von gesunder Haut zu Grunde, bei dem der initiale Wechselwirkungsbereich zwischen dem Luft-Plasma und dem Gewebe durch den Hydro-Lipid-Film auf der Epidermis<sup>\*9</sup> gegeben ist.

Vor der Durchführung dieser Studie waren die Auswirkungen einer Plasmabehandlung auf das pH-Milieu kutaner Oberflächen nicht bekannt. Aus Studien mit Bogen-Gleitentladungen (gliding arc) unter Verwendung des Prozessgases Luft war unter anderem bekannt, dass die Wechselwirkung plasma-chemisch bereitgestellter Spezies mit Wasser grundsätzlich zur Absenkung des pH-Wertes führen kann [157].

Bei den Untersuchungen wurde beobachtet, dass die Plasmaexposition eine signifikante Absenkung des pH-Wertes an der Oberfläche tierischer Lipidfilme zur Folge hat. Auch der Oberflächen-pH-Wert des menschlichen Hydro-Lipid-Films wurde durch die DBE-Behandlung mit einer Energiedichte von  $1,4 \text{ J/cm}^2$  von anfänglich pH 5,3 auf pH 3,7 gesenkt. Auch zwei Stunden nach der Behandlung war dieser Effekt, wenn auch abgeschwächt, noch nachweisbar. Bei der Mechanismenaufklärung wurde durch reflektometrische Messungen ein Zusammenhang zwischen dem pH-Wert und Nitrat-Ionen ( $\text{NO}_3^-$ ) ermittelt, was auf die Bildung und den Einfluss von Salpetersäure hinweist. Die Anwendung der in Luft betriebenen Volumen-DBE an Hautwunden verspricht somit (neben möglicherweise anderen heilungsfördernden Einflüssen) eine therapeutisch nutzbare Modulierung des Wund-pH-Milieus.

Die beschriebenen Untersuchungsreihen wurden in dem nachfolgenden Artikel publiziert:

---

<sup>9</sup>Wie bereits in den vorangegangenen Kapiteln sind biologische und medizinische Fachbegriffe gekennzeichnet (\*) und werden im Glossar unter Anhang A erläutert.

Quelle:

Andreas Helmke, Dennis Hoffmeister, Nina Mertens, Steffen Emmert, Jan Schuette, Wolfgang Vioel:

*The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air.*

New Journal of Physics. 2009. Vol. 11. 115025.

Copyright IOP Publishing and Deutsche Physikalische Gesellschaft.

Reproduced with permission.

## The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air

A Helmke<sup>1</sup>, D Hoffmeister<sup>1</sup>, N Mertens<sup>1</sup>, S Emmert<sup>2</sup>,  
J Schuette<sup>1</sup> and W Vioel<sup>1,3,4</sup>

<sup>1</sup> Department of Sciences and Technology, University of Applied Sciences and Arts, Von-Ossietzky-Str 99, 37085 Goettingen, Germany

<sup>2</sup> Department of Dermatology, Georg August University Goettingen, Von-Siebold-Str 3, 37075 Goettingen, Germany

<sup>3</sup> Laser Laboratorium Goettingen e.V., Hans-Adolf-Krebs-Weg 1, 37077 Goettingen, Germany

E-mail: [vioel@llg-ev.de](mailto:vioel@llg-ev.de)

*New Journal of Physics* **11** (2009) 115025 (10pp)

Received 17 July 2009

Published 26 November 2009

Online at <http://www.njp.org/>

doi:10.1088/1367-2630/11/11/115025

**Abstract.** We studied the acidifying efficiency of a cold atmospheric pressure plasma treatment and ambient air as a working gas on lipid films. Acidification of a thin water film could be observed on plasma-treated surfaces of wool wax, pork sebum and human lipids. This pH shift was partly attributable to NO<sub>x</sub> species and to the formation of nitric acid in the upper layers of the substrates. The acidic compounds on the lipid surfaces resulted in pH shifts for up to 2 h after plasma exposure, which might be beneficial for pH-targeted therapies in dermatology.

<sup>4</sup> Author to whom any correspondence should be addressed.

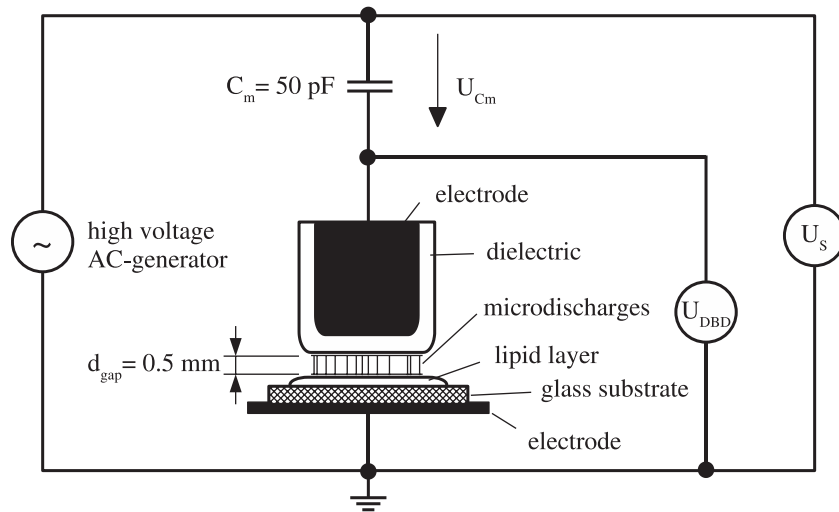
## Contents

<b>1. Introduction</b>	<b>2</b>
<b>2. Experimental part</b>	<b>3</b>
2.1. Dielectric barrier discharge (DBD) source . . . . .	3
2.2. Methodology and diagnostics . . . . .	4
<b>3. Results and discussion</b>	<b>5</b>
3.1. Power measurements . . . . .	5
3.2. Plasma treatment of lipid films . . . . .	5
3.3. Sample diagnostics . . . . .	5
<b>4. Conclusion</b>	<b>9</b>
<b>Acknowledgments</b>	<b>10</b>
<b>References</b>	<b>10</b>

## 1. Introduction

Plasma sources for the biomedical field have been developed using diverse technical approaches to meet the claims of plasma medicine. These sources have been applied for sterilization and wound healing during the last decade with increasing insights into the dynamics of plasma interactions with biological components [1]–[6]. Direct treatment with air plasmas at atmospheric pressure is known to have physical and chemical bactericidal effects. A local reduction of bacterial colonization within the time frame of seconds to minutes has been observed in several studies [7]–[10]. However, how plasmas interact with biomaterials is not fully resolved and there are still uncertainties regarding cooperation and synergies between particular plasma agents. In terms of therapeutical applications in plasma medicine, the biocidal effects of plasmas on microorganisms within the active plasma phase are important, but alterations of the tissue surface caused by interactions with plasma species are also of relevance.

In the case of human skin surfaces exposed to plasmas, the outermost layer to interact directly with the chemical compounds produced is the hydrolipid film covering the epidermis. This continuously renewing emulsion is generated by transepidermal water, lipids, amino acids, lactic acids and free fatty acids [11]. It can be considered as the substratum for a complex microbial ecosystem consisting of numerous bacteria of various genera [12]. Ecologic shifts in microbial inhabitants can result in skin diseases: in contrast it is well known that the microbial composition of wounds is shifted because of the altered conditions compared with healthy skin [13, 14]. These shifts correlate with changes of the environmental pH values, which can therefore be considered as an important determinant of metabolism. Hence, pH-targeted approaches are of growing interest for therapeutic strategies in wound healing [15]. The hydrolipid film of healthy skin is balanced at a pH value of 5.4–5.9 [16]. Studies on affected skin areas from patients with diseases such as ichthyosis and atopic dermatitis, as well as from wounds from chronic venous leg ulcers and pressure sores, have revealed elevated cutaneous pH [17]–[19]. Thus, these areas undergo enhanced susceptibility to pathogen growth, as most relevant pathogenic bacteria on human skin possess optimum growth at pH values above 6, while their growth is inhibited at a lower pH [20].



**Figure 1.** Simplified electrical setup for measurements and treatment in ambient air.

This background forms the basis of studies on the efficacy of acidification by plasma treatment of lipid films. Furthermore, acidification by plasma exposure might also contribute to our understanding of plasma processing of other biomaterials such as wood [21].

## 2. Experimental part

### 2.1. Dielectric barrier discharge (DBD) source

The experimental setup is illustrated in figure 1. By applying high voltage pulses to an electrode covered by a dielectric platen, a discharge in the air gap between the dielectric surface and the glass substrate on the counter electrode is ignited.

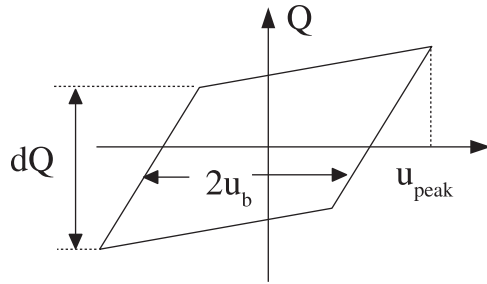
The dielectric is made of alumina with a diameter of 10 mm, an insulation thickness of 1 mm and a relative permittivity of  $\epsilon_r = 9.6$ . The plasma propagates in the multi-filamentary mode, consisting of stochastically distributed streamers. The power supply is identical to the apparatus used in the work of Kuchenbecker *et al* [22]. It generates high voltage-pulsed packages of some  $10 \mu\text{s}$  (see figure 3(a)) with a maximum amplitude of the alternating voltage up to 13 kV at repetition rates between 200 and 300 Hz. The electrical parameters were measured by applying two high voltage probes 1000 : 1 Tektronix P6015A and oscilloscope Yokokawa DL1740EL Dual 500 MHz. Measured voltage traces were digitized and transmitted to a personal computer for processing using MATLAB software.

The  $Q-U$  plot method was applied for measuring energy dissipated into the discharge. Typically, these plots have a parallelogram shape, as shown in figure 2.

From the enclosed area of the Lissajous curve in 1943 Manley first derived expressions for the energy dissipated into the discharge [23]. According to Manley, the total charge  $dQ$  transferred by the microdischarges per half cycle of an applied sinusoidal voltage is given by

$$dQ = 2C_{\text{die}}\{u_{\text{peak}} - [(C_{\text{die}} + C_{\text{gap}})/C_{\text{die}}]u_b\}, \quad (1)$$

whereby  $C_{\text{die}}$  is the capacitance of the dielectric,  $C_{\text{gap}}$  is the capacitance of the gas gap,  $u_{\text{peak}}$  is the peak value of the applied voltage and  $u_b$  is the effective gas breakdown voltage. Because



**Figure 2.** Schematic of the  $Q$ - $U$  Lissajous diagram.  $u_{\text{peak}}$  is the peak value of the applied voltage,  $u_b$  is the effective gas breakdown voltage and  $dQ$  is the total charge transferred by the microdischarges per half cycle.

there are both a forward and a reverse discharge in each cycle, the energy  $W$  coupled into the discharge amounts to

$$W = 2dQu_b. \quad (2)$$

Inserting equation (1) into (2) leads to

$$W = 4u_b C_{\text{die}} \{u_{\text{peak}} - [(C_{\text{die}} + C_{\text{gas}})/C_{\text{die}}]u_b\}. \quad (3)$$

The mean power dissipated in the discharge can be calculated by multiplying the mean energy  $W$  per cycle with the repetition frequency  $f$  of the applied voltage pulses [24]:

$$P = Wf. \quad (4)$$

## 2.2. Methodology and diagnostics

For the experiments, wool wax (adepts lanae anhydricum) as well as sebum stripped from pork skin and lipid layers stripped from a human forehead were plasma-treated on microscope slides measuring  $76 \text{ mm} \times 26 \text{ mm} \times 1 \text{ mm}$ . For the purpose of defined layers, 5-mm-wide Scotch Magic Tape No. 810 was stuck along both 76 mm sides of the glass surfaces. The biomaterial was then deposited onto the glass surface and spare material was removed by scraping the tape lengthwise, resulting in layers of  $76 \text{ mm} \times 16 \text{ mm} \times 63 \mu\text{m}$ .

As soon as the layers were established, the samples were plasma treated for different durations at a constant distance of  $d_{\text{gap}} = 0.5 \text{ mm}$  (see figure 1). Immediately after exposure, a droplet of  $20 \mu\text{l}$  deionized water was pipetted onto the treated area of each specimen. The pH of the droplet was determined potentiometrically by applying a 12 mm diameter Derma Unit SSC 3 glass electrode (Courage and Khazaka Electronics, Cologne, Germany). This method requires the complete coverage of the treated area with water. The electrode was brought into contact with the water drop. The water spread over the complete area of the glass membrane and a thin film approximately 0.2 mm thick formed between the glass electrode and the lipid surface.

In another series of tests, to analyze the water content  $20 \mu\text{l}$  droplets were pipetted onto plasma-treated surfaces. After 20 s, the droplets were extracted from each surface by a pipette and dropped onto substance specific test strips. In two test series, the concentrations of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ , Reflectoquant 1.16971.0001, Merck) and nitrite ( $\text{NO}_2^-$ , Reflectoquant 1.16973.0001, Merck) were determined using a RQFlex reflectometer (Merck, Darmstadt, Germany). The



reflectometer is based on the principle of remission photometry and the concentrations of specific analytes can be derived from the difference in intensity of emitted and reflected light from substance specific test strips [25]. Calibration was achieved by preprogrammed bar codes resulting in a measurement accuracy of  $\pm 10\%$  in the mean effective range.

### 3. Results and discussion

#### 3.1. Power measurements

Each pulse package is a damped sine wave with a frequency of about 100 kHz. For the first three periods of the sine wave, breakdown conditions in the gas gap are fulfilled and microdischarges are ignited. This corresponds to the findings of Kuchenbecker *et al.* At a constant gap, the average power and the total transferred charge are proportional to the supplied voltage. Therefore, dissipated energy into the discharge was determined for the first three periods separately (see figures 3(b)–(d)) and summed up to

$$P = (W_b + W_c + W_d) f. \quad (5)$$

The mean discharge power was determined for two different voltage amplitudes and repetition rates of the power supply. For an amplitude of 6.3 kV at a repetition rate of 271 Hz and 11.5 kV at 206 Hz mean discharge powers of  $P_{\text{low}} = 18 \text{ mW}$  and  $P_{\text{high}} = 66 \text{ mW}$  were obtained, respectively.

#### 3.2. Plasma treatment of lipid films

The application of a dielectric barrier discharge to lipid films of wool wax and pork sebum led to significant decreases in pH values, as depicted in figures 4 and 5.

The results for wool wax and pork sebum clearly indicated the inversely proportional scaling of pH with increasing plasma energy. After 5 s of plasma treatment, the pH was reduced by one unit, while after 480 s both surfaces led to pH values in the water droplet of 2.4 at a plasma power of  $P_{\text{low}} = 18 \text{ mW}$  and 2.8 at  $P_{\text{high}} = 66 \text{ mW}$ .

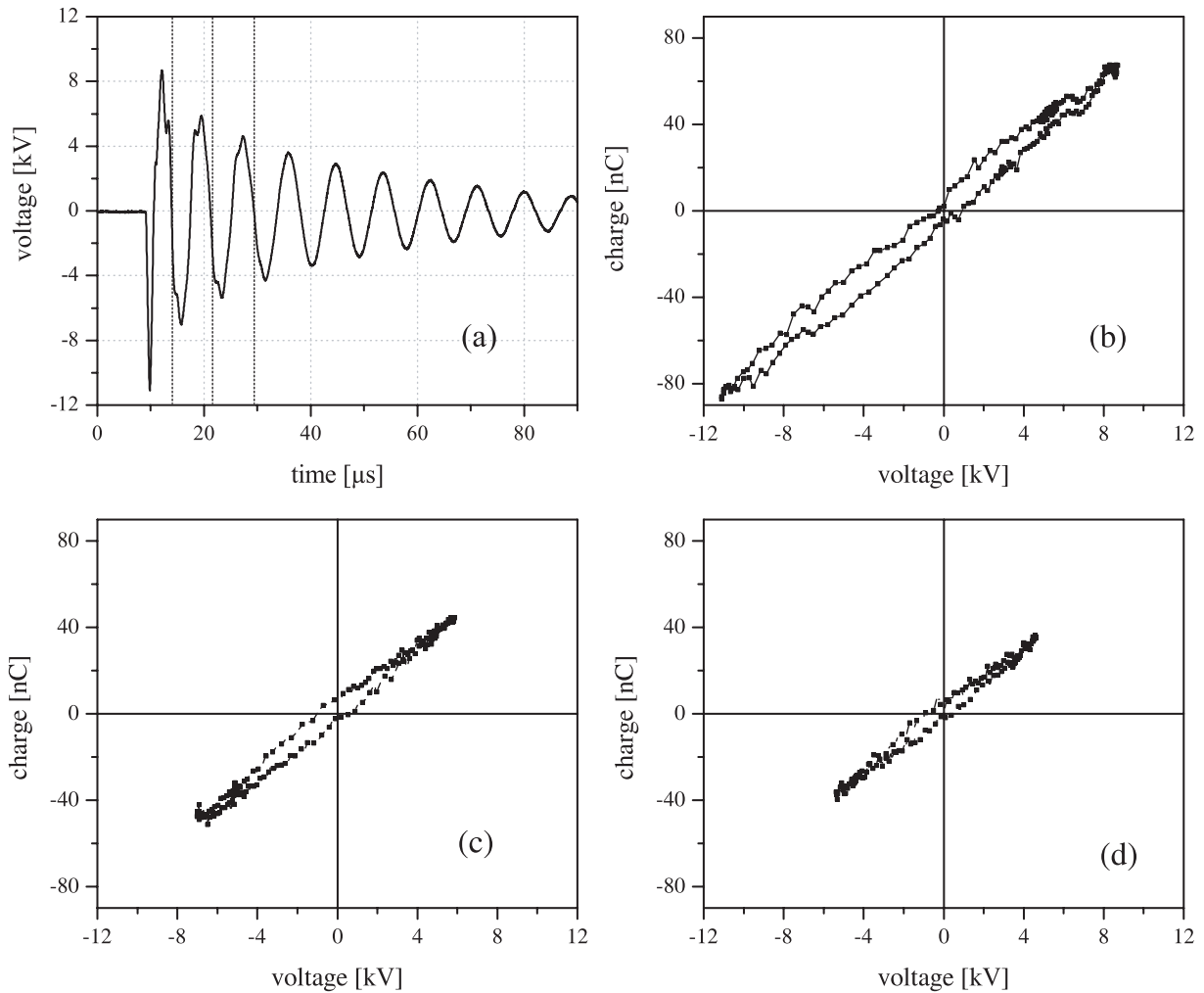
The pH characteristics of plasma-treated human lipid films are presented in figure 6. Because of the acidic constituents in the lipid film, the initial pH value was considerably lower than in the former experiments. In our experiments, the pH varied between 4.6 and 6.2 prior to treatment, which is in good agreement with previous measurements of Zlotogorski [26]. After 60 s of exposure, the plasma treatment caused a pH shift down to a mean value of 3.7.

To evaluate the duration of acidification, wool wax surfaces were plasma-treated and then stored untreated at ambient conditions. The corresponding pH values, determined at different periods after plasma treatment, are depicted in figure 7.

Even at 2 h after plasma treatment, the wool wax surfaces did not recover to the initial pH value of 7.3 but remained about 1.3 units lower. We attribute the recovery of pH in the post-plasma phase to the decrease of acidifying agents on the substrate surfaces by both diffusion and desorption processes.

#### 3.3. Sample diagnostics

In general, the dominant species produced by the gas discharge at this experimental conditions is ozone, while the amount of  $\text{NO}_x$  species is rather small [27]. Still,  $\text{NO}_x$  species are known



**Figure 3.** Wave form of output voltage (a). Lissajous figures for the first (b), second (c) and third period (d) of the wave form when a discharge is ignited.

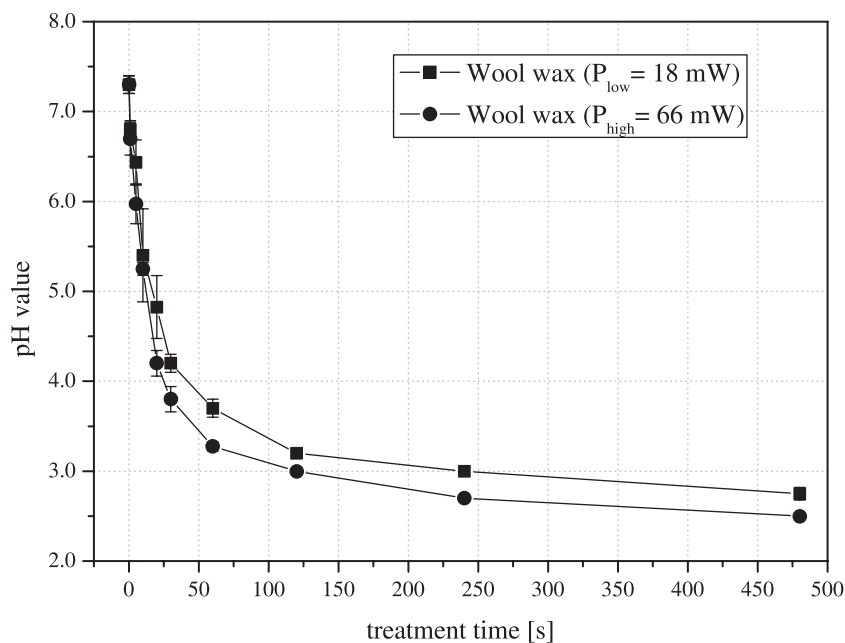
to produce strong acids in the presence of water and thereby may contribute noticeably to pH shifts [28, 29]. Consequently, to identify possible agents causing acidification in our experiments, amounts of nitrates, nitrites and oxonium ions were measured. Using the approximation of equation (6) below, the concentrations of oxonium ions were calculated from measured pH values. As the water volume was kept constant, the amount of oxonium ions in the droplet could be calculated.

$$\text{pH} \approx -\log(c_{\text{H}_3\text{O}^+}). \quad (6)$$

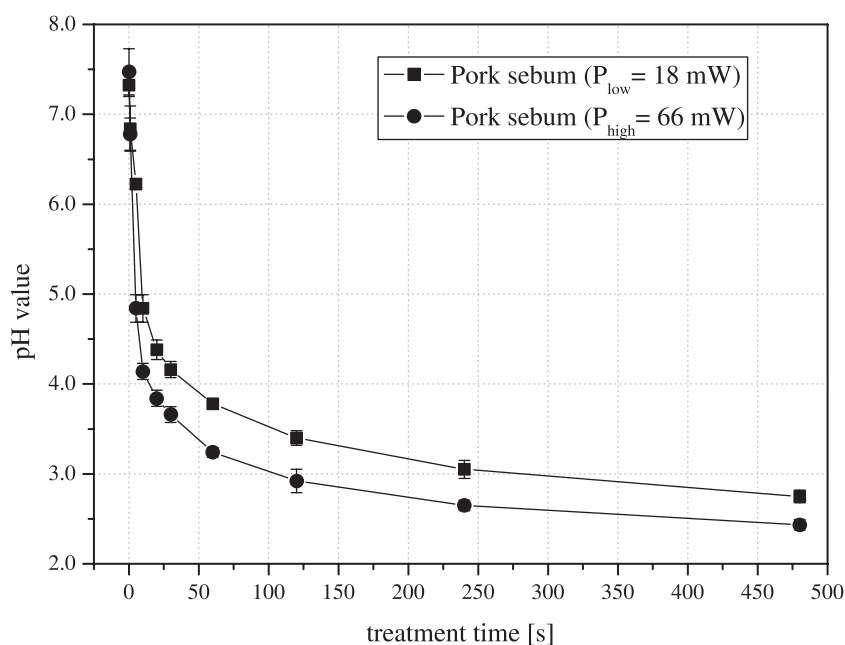
The amounts of nitrates and nitrites could be determined from the measured concentrations in the water droplet. Because of cross reaction of the nitrate test strips with nitrite content in the solution and assuming linear failure, the nitrate amount curve had to be corrected by

$$\frac{dn_{\text{NO}_3^-}}{dE} = \frac{dn_{\text{measure}}}{dE} - \frac{dn_{\text{NO}_2^-}}{dE}. \quad (7)$$

Figure 8 clearly shows the correlation between surface acidification and nitrate content on the lipid surface caused by formation of  $\text{NO}_x$  species in the discharge volume. From that we

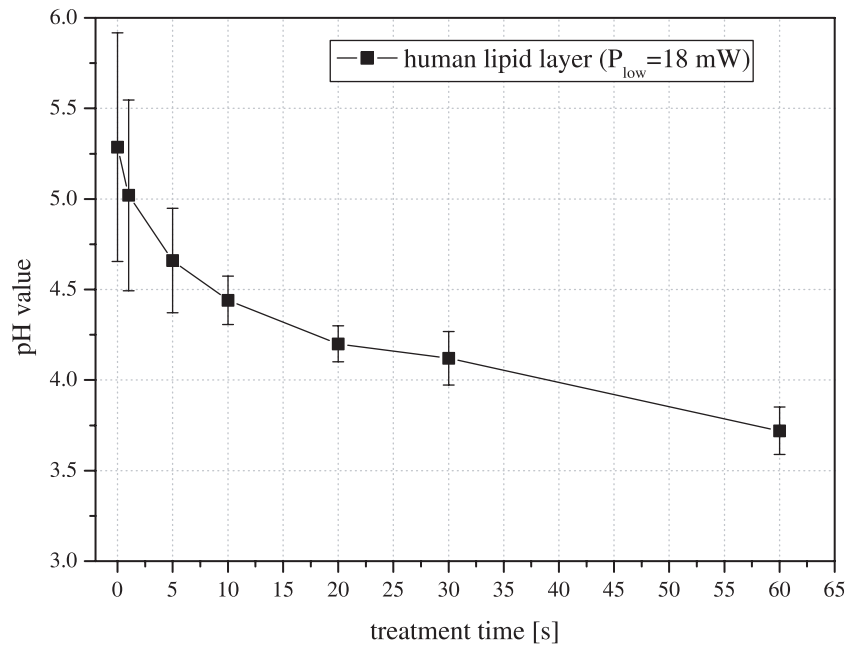


**Figure 4.** pH values of plasma-treated wool wax at different discharge powers. Plasma treatment times varied between 1 and 480 s.

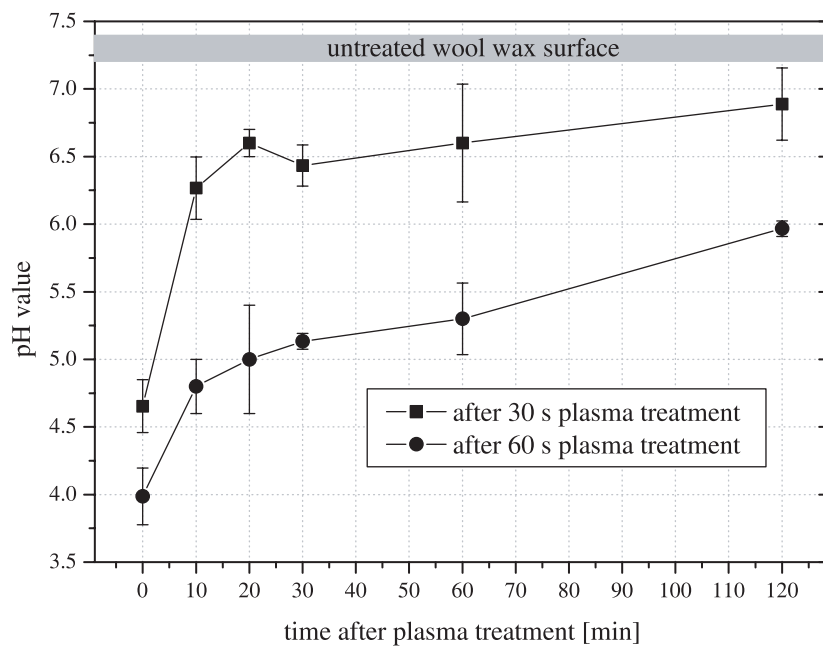


**Figure 5.** pH values of plasma-treated pork sebum at different discharge powers. Plasma treatment times varied between 1 and 480 s.

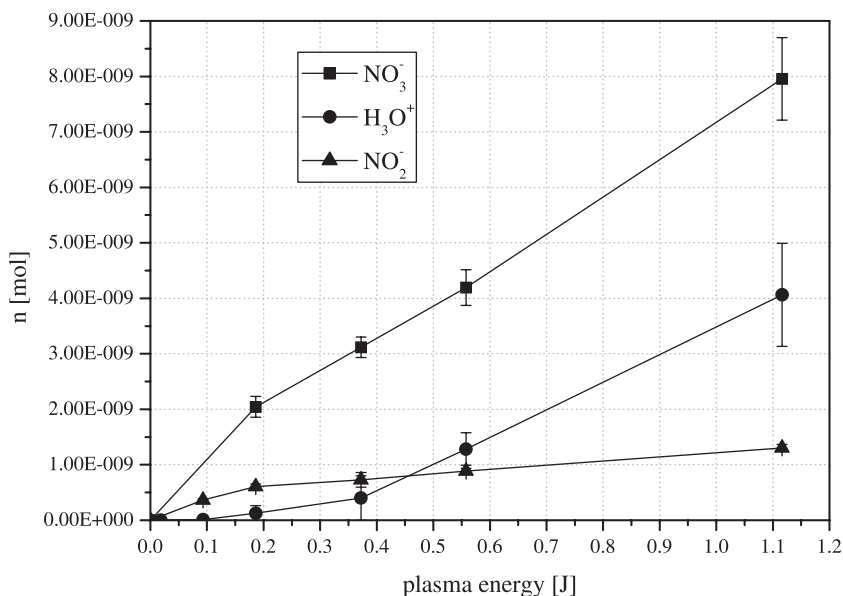
conclude that the formation of nitric acid may play an important role for surface acidification. There are multiple pathways for the formation of nitric acid in the gas discharge. A prominent educt for formation of nitric and nitrous acids is nitrogen dioxide  $\text{NO}_2$ , which is produced in non-equilibrium discharges by various reactions [30].



**Figure 6.** pH values of plasma-treated human lipid layer at constant power. Plasma treatment times varied between 1 and 60 s.



**Figure 7.** Mean values and standard deviation of pH up to 2 h after plasma treatment at  $P_{\text{low}} = 18 \text{ mW}$  for 30 and 60 s of wool wax and ambient air as the working gas.



**Figure 8.** Amount of nitrate  $\text{NO}_3^-$  (from reflectometric measurements), oxonium ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  (from pH measurements) and nitrite  $\text{NO}_2^-$  (from reflectometric measurements) in droplets of  $20\ \mu\text{l}$  deionized water on plasma-treated wool wax. Plasma power was  $P_{\text{low}}$ . The working gas was ambient air.

Gaseous  $\text{HNO}_3$  can be produced by the reaction mechanism (8), below, in the discharge volume, whereby OH is generated by dissociation of  $\text{H}_2\text{O}$  molecules present in the discharge under atmospheric conditions. Gaseous  $\text{HNO}_3$  can then dissolve into the aqueous phase



In the aqueous phase (see reaction mechanism 9, below), the dissolution of gaseous  $\text{NO}_2$  produces nitrous as well as nitric acid



#### 4. Conclusion

From the results, we attribute the pH shift of water on plasma-treated lipid films to acidic constituents on the lipid film surfaces. These are most likely generated by the interaction of chemically reactive species with the surface. The amounts of nitrates in the water droplets and most likely the formation of nitric acid could be sufficient to explain the pH shifts, but the complete kinetics of acidification, especially in the presence of ozone, are to be investigated in more detail.

We attribute the nitrate content in the water droplets either to adhesion of  $\text{NO}_x$  species on the lipid surfaces, or to the deposition of nitric acid on the film surfaces by gaseous  $\text{HNO}_3$ .

The sustainable mechanism of surface acidification was active in our experiments even 2 h after plasma exposure. These preliminary observations need further investigations as they might offer a first step into pH targeted plasma therapies in dermatology.

## Acknowledgments

This work was supported by the German Government BMBF, contract no. 13N9089, under the supervision of Dr Karin Reichel, VDI Technologiezentrum Duesseldorf, Germany.

## References

- [1] Weltmann K-D, Brandenburg R, von Woedtke T, Ehlbeck J, Foest R, Stieber M and Kindel E 2008 *J. Phys. D: Appl. Phys.* **41** 194008
- [2] Laroussi M 2005 *Plasma Process. Polym.* **2** 391
- [3] Stoffels E, Flikweert A J, Stoffels W W and Kroesen G M W 2002 *Plasma Sources Sci. Technol.* **11** 383
- [4] Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter A B, Vasilets V N and Fridman A 2008 *Plasma Process. Polym.* **5** 503
- [5] Kaemling C, von Nostitz-Wallwitz S, Kaemling A and Vioel W 2005 *Surf. Coat. Technol.* **200** 668
- [6] Tuemmel S, Mertens N, Wang J and Vioel W 2007 *Plasma Process. Polym.* **4** 465
- [7] Ehlbeck J, Brandenburg R, von Woedtke T, Krohmann U, Stieber M and Weltmann K-D 2008 PLASMOSE antimicrobial effects of modular atmospheric plasma sources *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* **3** 1 Doc14 (<http://www.egms.de/en/journals/dgkh/2008-3/dgkh000112.shtml>)
- [8] Laroussi M and Leipold F 2004 *Int. J. Mass Spectrom.* **233** 81
- [9] Montie T C, Kelly-Wintenberg K and Roth J R 2000 *IEEE Trans. Plasma Sci.* **28** 41
- [10] Perni S, Shama G and Kong M G 2008 *J. Food Protect.* **71** 1619
- [11] Chikakane K and Takahashi H 1995 *Clin. Dermatol.* **13** 299
- [12] Bojar R A and Holland K T 2002 *World J. Microbiol. Biotechnol.* **18** 889
- [13] Fredricks D N 2001 *JID Symp. Proc.* **6** 167
- [14] Marchionini A and Schmidt R 1938 *Klin. Wochenschr.* **54** 461
- [15] Schneider L A, Korber A, Grabbe S and Dissemmond J 2007 *Arch. Dermatol. Res.* **298** 413
- [16] Schmidt-Wendtner M H and Korting L A 2006 *Skin Pharmacol. Physiol.* **19** 296
- [17] Oehman H and Valquist A 1998 *J. Invest. Dermatol.* **111** 674
- [18] Seidenari S and Giusti G 1995 *Acta Derm. Venerol.* **75** 429
- [19] Glibbery A and Mani R 1992 *Int. J. Microcircuits. Clin. Exp.* **11** 109
- [20] Stewart C M, Cole M B, Legan J D, Slade L, Vandeven H H and Schaffner D W 2002 *Appl. Environ. Microbiol.* **68** 1864
- [21] Wolkenhauer A, Avramidis G, Hauswald E, Loose S, Militz H and Vioel W 2009 *Wood Res.* **54** 59
- [22] Kuchenbecker M, Bibinov N, Kaemling A, Wandke D, Awakowicz P and Vioel W 2009 *J. Phys. D: Appl. Phys.* **42** 045212
- [23] Manley T C 1943 *Trans. Electrochem. Soc.* **84** 83
- [24] Falkenstein Z and Coogan J J 1997 *J. Phys. D: Appl. Phys.* **30** 817
- [25] Holden N-M and Scholefield D 1995 *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **26** 1885
- [26] Zlotogorski A 1987 *Arch. Dermatol. Res.* **279** 398
- [27] Fridman A 2008 *Plasma Chemistry* (New York: Cambridge University Press) p 388
- [28] Dodet B, Odic E, Salamitou S, Goldman A and Goldman M 2006 Biological applications of atmospheric pressure dielectric barrier discharges *10th Int. Symp. on High Pressure Low Temperature Plasma Chemistry (HAKONE X)* (Saga City, Japan, 2006) p IL-01
- [29] Pacheco M, Pacheco J, Moreno H and Santana A 2008 *Phys. Scr. T* **131** 014017
- [30] Kossyi I A, Yu Kostinsky A, Matveyev A A and Silakov V P 1992 *Plasma Sources Sci. Technol.* **1** 207

## 5.2 Bakterizide Wirkung und Mechanismen bei der Plasmaexposition eines nosokomialen Hautkeims durch eine Volumen-DBE

Die Heilung von Wunden ist ein komplexer Prozess mit einer Vielzahl von Einflussfaktoren, die sich unter Umständen negativ auf den Heilungsprozess auswirken können. Zu den wichtigen Faktoren zählt die Keimbesiedelung. Zwar wird der Einfluss der mikrobiellen Besiedelung auf die Wundheilung unter Medizinern kontrovers diskutiert, dennoch werden in der modernen klinischen Wundversorgung überwiegend Maßnahmen zur Reduzierung der Wundbesiedlung (Antisepsis) ergriffen [158]. Eine bakterielle Wundkolonisierung kann abhängig von der Keimzahl, der Anzahl unterschiedlicher Spezies, der Virulenz\* und synergistischer Wechselwirkungen dieser Organismen sowie der Immunantwort des Patienten zu einer Infektion der Wunde führen, was unmittelbar zu einer Verzögerung des Heilungsprozesses führt [159, 160].

Um Anhaltspunkte für die Eignung einer Volumen-DBE als antiseptisches Werkzeug in der Dermatologie zu generieren, wurde eine in vitro-Studie unter Verwendung des Keims *Staphylococcus epidermidis* konzipiert, der als grampositives Bakterium ein natürlicher Bestandteil der residenten menschlichen Hautflora ist. Die Studieninhalte waren auf zwei Zielstellungen ausgerichtet: Zum Einen sollte die Wirksamkeit einer gewebeverträglich parametrisierten Volumen-DBE in Luft zur Inaktivierung von *Staphylococcus epidermidis* untersucht werden. Darüber hinaus sollte durch entsprechend konzipierte Experimente ein grundsätzlicher Beitrag zur Aufklärung der Wirkungsmechanismen nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen auf Bakterien geleistet werden.

Zur Aufklärung von Wechselwirkungsmechanismen wurde ein komparatives Studiendesign gewählt, bei dem parallel zur Plasmaexposition separate Versuchsreihen zur UV-C-Bestrahlung der Bakterien mit vergleichbarer Inaktivierungseffizienz durchgeführt wurden. Darüber hinaus beinhaltete das Studienlayout Aspekte zum Einfluss der pH-Änderung der Nährmedien, die anhand der Erkenntnisse aus Kapitel 5.1 zu erwarten waren.

Zu Beginn der Studie war keine Publikationen zur Inaktivierung von *Staphylococcus epidermidis* unter Verwendung einer Volumen-DBE bekannt. Die grundsätzlich eher geringe Datenlage zu diesem Keim ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass das Bakterium formal oft nicht als Pathogen\* einge-

stuft wird. Damit war es im Gegensatz zum deutlich populäreren weil äußerst virulenten und teilweise mit Multiresistenzen ausgestatteten *Staphylococcus aureus* (z.B. MRSA) vermutlich nicht in den Fokus des Forschungsinteresses gerückt. Mittlerweile wird *Staphylococcus epidermidis* jedoch durch seine Fähigkeit zur Biofilm- und Antibiotikaresistenzbildung sowie der steten Präsenz als verbreiteter Hautkeim für immungeschwächte Patienten zunehmend zur Bedrohung und deshalb als nosokomialer\* Keim eingestuft [161].

Aus zahlreichen in vitro-Untersuchungen war bekannt, dass durch eine Exposition mit nicht-thermischen Atmosphärendruckplasmen eine Inaktivierung vieler Mikroorganismen erzielt werden konnte [84, 87, 90]. Dabei steht in Publikationen häufig die Effizienz der Inaktivierung (D-Wert\*) im Vordergrund. Die konkreten Auswirkungen der Plasmaexposition auf der Funktions- und Strukturebene von Bakterien (und damit auch die dominierenden Mechanismen) variieren jedoch stark von Experiment zu Experiment. Die Prozessparameter sind umfangreich und umfassen u.a. das Applikationskonzept der Plasmaquelle (direkt, indirekt), die elektrischen Betriebsparameter (Spannungsform, Energiedichte), das verwendete Arbeitsgas, sowie die Bakterien-Spezies, deren Präparation, die verwendete Zelldichte, den Zellzustand (vegetativ, planktonisch, Biofilm), das verwendete Nährmedium (flüssig, fest, pH-Puffer) und nicht zuletzt die gewählte Methodik zur Bestimmung der Keimzahlen. Angesichts der Tatsache, dass es bei der Plasma-Inaktivierung von Mikroorganismen zur Kombination zweier für sich allein genommen bereits komplexer Systeme kommt, ist es wenig überraschend, dass die Erkenntnisse aus einzelnen Studien häufig nur in einem engen technisch-methodischen Parameterfenster Gültigkeit besitzen. Daraus wiederum folgt, dass trotz zahlreicher Publikationen zum Zeitpunkt der in diesem Kapitel beschriebenen Studie relativ wenig grundlegende Prinzipien identifiziert werden konnten und noch kein umfassendes Verständnis der Mechanismen und Einflussfaktoren bei der Inaktivierung von Bakterien durch nicht-thermische Plasmen aufgebaut werden konnte. Es ließen sich jedoch bereits Trends erkennen, die darauf hinwiesen, dass der äußere Hüllenaufbau der Bakterien hinsichtlich der Anfälligkeit gegenüber Plasmen eine Rolle spielt und sich speziell die Zellmembranen als sensibel gegenüber den Plasmakomponenten erwiesen hat [148]. Somit war auf Basis des damaligen Stands der Forschung die Effizienz, der dominierende Wirkmechanismus und damit das antiseptische Potential des eingesetzten Funktionsmusters nicht unmittelbar ableitbar.

Die Effizienz bei der Inaktivierung von vegetativen Zellen sowie Biofilmen des Methicillin-resistenten *Staphylococcus aureus* durch eine nicht-geströimte Volumen-DBE in Luft wurde von Joshi *et al.* untersucht [106]. In Muranyi *et al.* wurde eine Luft-geströimte Volumen-DBE mit einer Excimer-Lampe



kombiniert und die Effizienz des Gesamtsystems bei der Inaktivierung von *Staphylococcus aureus* und weiterer Keime bestimmt [162]. Kamgang *et al.* erzeugten hingegen das Plasma für die Behandlung von *Staphylococcus epidermidis* durch eine Bogen-Gleitentladungen in Luft. Der Fokus dieser Studie lag ebenfalls auf Untersuchungen zur Verfahrenseffizienz bei der Plasmabehandlung von Zellen in unterschiedlichen physiologischen Zuständen (planktonisch, adherent, Biofilm) des Bakteriums. Die Wechselwirkung Plasma-Bakterium wurde ausschließlich durch REM-Aufnahmen abgeklärt und es zeigten sich keine strukturellen Veränderungen der Zellen [163]. In Pompl *et al.* hingegen waren an nicht weiter spezifizierten *Staphylococcus*-Zellen nach einer Behandlung durch einen Argon-Plasma-Jet („MicroPlaSter alpha“) strukturelle Veränderungen mittels AFM nachweisbar [132]. Unter Verwendung einer in Luft arbeitenden Corona-Entladung konnte in Scholtz *et al.* anhand des relativen Vergleichs der Hemmhofgröße an Agaroberflächen eine mit den anderen acht vegetativen Testkeimen vergleichbare Sensitivität von *Staphylococcus epidermidis* gegenüber der Plasmaexposition beobachtet werden. Es wurden jedoch keine Untersuchungen zur Aufklärung der Wechselwirkungsmechanismen durchgeführt [164].

Aus den vergleichsweise umfangreichen Ergebnissen der vorliegenden Studie konnten sowohl Erkenntnisse aus früheren Publikationen experimentell bestätigt als auch neue Erkenntnisse gewonnen werden. So ließ sich beispielsweise aus dem direkten Vergleich der spektralen Verteilung sowie der Strahlungsintensitäten zwischen Plasmaemission und UV-C-Exposition schlussfolgern, dass der direkten Wirkung der plasmainduzierten Strahlung (UV-A und UV-B) auf Bakterien keine dominierende Rolle bei ihrer Inaktivierung zukommt. Dieser Teilaspekt bestätigt experimentell die theoretisch formulierte Schlussfolgerung von Laroussi und Leipold, die sie aus Untersuchungen mit einer Volumen-DBE in Luft zur Inaktivierung von Bakterien ableiteten [89].

Die Klassifizierung als „nicht-thermisches Plasma“ und damit der vernachlässigbare Einfluss thermische bestimmter Wechselwirkungen ließ sich zum Einen durch Temperaturmessungen belegen. Zum Anderen wurde wie bereits in einigen Studien zuvor mittels REM der Nachweis erbracht, dass die morphologische Struktur der Bakterien von der Plasmabehandlung unbeeinflusst blieb.

Anhand des gewählten Studienlayouts konnte der experimentelle Nachweis erbracht werden, dass sich die plasmainduzierte pH-Absenkung an der Oberfläche des Nährmediums signifikant auf die Inaktivierungseffizienz auswirkt. Damit konnte eine konkrete synergistische Wirkung bei der Plasmaexposition von Bakterien nachgewiesen werden, die grundsätzlich bereits von vielen Forschern aufgrund der zeitlich und räumlichen Kopplung einer Vielzahl von

Faktoren (unterschiedliche chemische Spezies, Elektronen, Ionen, elektrische Felder und UV-Strahlung) im Plasma vermutet wurde.

Die Vergleichbarkeit der Inaktivierungseffizienzen bei den Wachstumsreihen und den fluoreszenzbasierten Lebend-Tot-Testungen legt den Schluss nahe, dass die Zellmembranen ein besonders sensibles Zellelement bei der Wechselwirkung von Plasmen mit Bakterien sind. Passend dazu wurde von Montie *et al.* bereits die Hypothese aufgestellt, dass die Lipide der Membranen aufgrund ihrer Sensitivität gegenüber reaktiven Sauerstoffspezies und ihrer Anordnung nahe der Zelloberfläche von zentraler Bedeutung sind [84]).

Bei der Analyse der bakteriellen DNA konnten zunächst unterschiedliche Resultate für die Plasma- und die UV-C-Behandlung beobachtet werden. Die gut dokumentierte Wirkung von UV-C-Strahlung führt bei DNA zur Dimerisierung von Basenpaaren, die erst durch eine zusätzliche Behandlung in Strangbrüche umgewandelt werden [165]. Innerhalb der Untersuchungsreihen führte hingegen die Plasmabehandlung bei vergleichbarer Inaktivierungseffizienz unmittelbar zu DNA-Doppelstrangbrüchen.

Schließlich wurden die experimentellen Ergebnisse im Kontext plasma-chemischer Volumen- und Oberflächenprozesse diskutiert und ein Mechanismus für den Einfluss der pH-Absenkung auf die Inaktivierungseffizienz vorgeschlagen. Diese Argumentation deutet auf den wichtigen Einfluss radikalischer Spezies bei der Inaktivierung von Bakterien durch nicht-thermische Atmosphärendruckplasmen hin.

Die beschriebenen Untersuchungsreihen wurden in dem nachfolgenden Artikel publiziert:

Quelle:

Andreas Helmke, Dennis Hoffmeister, Frank Berge, Steffen Emmert, Petra Laspe, Nina Mertens, Wolfgang Vioel, Klaus-Dieter Weltmann:

*Physical and Microbiological Characterisation of Staphylococcus epidermidis Inactivation by Dielectric Barrier Discharge Plasma.*

Plasma Processes and Polymers. 2011. Vol. 8. 278-286.

Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Reproduced with permission.

# Physical and Microbiological Characterisation of *Staphylococcus epidermidis* Inactivation by Dielectric Barrier Discharge Plasma

Andreas Helmke,\* Dennis Hoffmeister, Frank Berge, Steffen Emmert, Petra Laspe, Nina Mertens, Wolfgang Vioel, Klaus-Dieter Weltmann

The inactivation of the Gram-positive bacteria *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 12228) in its vegetative state was studied *in vitro* after exposure to cold atmospheric pressure plasma generated by direct dielectric barrier discharge (DBD). Compared to UV radiation at 254 nm, plasma UV emission yielded no significant contribution to bacterial inactivation. Analysis of bacterial growth inhibition revealed a pH dependency on growth media. Yet, measurements combined with numerical simulations excluded the pH shift induced by plasma generated reactive species as the main cause of bacterial inactivation. Scanning electron microscopy (SEM) images showed no alteration of cell walls, while fluorescence microscopy revealed lethal damage to cell membranes even after 1 s treatment. When the cell membrane was already severely damaged, also degradation of the bacterial DNA by plasma treatment was found. We conclude that membrane damage due to reactive oxygen species (ROS) and DNA degradation are the main mechanisms of plasma-induced bacterial death that is aggregated by milieu acidification.



## Introduction

Owing to the complexity of technical concepts for generation of plasma (jets, direct discharges), genus and states of

microorganisms (vegetative, planktonic, spores) and experimental conditions (in vitro or in vivo, bacteria in aqueous or gaseous phase), the field of research is generally broad for studies on plasma decontamination.<sup>[1–9]</sup> This sort of plasma is known as cold atmospheric pressure plasma (CAP). Direct plasma generated by dielectric barrier discharge (DBD) is a powerful tool for decontamination, as this gas discharge allows the utilisation of many plasma components such as chemical species (short- and long-lived and even shortest lived), ion bombardment and radiation. Even when focusing on DBD research dealing with inactivation or even sterilisation techniques, recent studies show a remarkable level of diversity reaching from in vitro inactivation of important pathogens to industrial applications in the food industry.<sup>[10,11]</sup>

The bactericidal effect of CAPs has been investigated for many years by various groups with different technical

A. Helmke, D. Hoffmeister, F. Berge, N. Mertens, W. Vioel  
Department of Sciences and Technology, University of Applied  
Sciences and Arts, Von-Ossietzky-Str. 99, 37085 Goettingen,  
Germany  
Fax: +49 551 3705 206; E-mail: helmke@hawk-hhg.de  
A. Helmke, K.-D. Weltmann  
Leibniz Institute for Plasma Science and Technology e.V. (INP  
Greifswald), Felix-Hausdorff-Str. 2, 17489 Greifswald, Germany  
S. Emmert, P. Laspe  
Department of Dermatology, Venerology and Allergology, Georg  
August University Goettingen, Von-Siebold-Str. 3, 37075  
Goettingen, Germany

approaches to generate direct and indirect plasmas. Studies on air plasmas often conclude that reactive oxygen species (ROS) play a dominant role while on the other hand also charged particles are referred to as important bactericidal agents.<sup>[12–15]</sup> Due to the complexity of both biochemical and plasma chemical reaction mechanisms, a general understanding of bactericidal mechanisms involved is yet to be achieved.

The aim of this study was to test the antiseptic efficacy of our newly developed plasma source for *in vitro* inactivation of *S. epidermidis* as a typical microorganism of resident skin flora at the agar–gas–interface of growth media. A similar model has already been used by other authors to simulate typical conditions for dermatological demands.<sup>[16]</sup> Although *S. epidermidis* has a low pathogenic potential, the bacterium emerged as a common nosocomial pathogen due to its ability to infect immunocompromised patients and develop multi-resistances.<sup>[17]</sup> A further goal was to identify the impact of plasma treatment on the structural and functional level of microorganisms. Therefore, all experiments were carried out with bacterial monolayers. The rationale of this approach is to ensure homogeneous dose distribution facilitating quantitative analysis at the cost of experimentally traceable multi-log reduction.

## Experimental Part

The experimental set-up is depicted in Figure 1. Based on the DBD principle, a mesh electrode (wire thickness 0.3 mm and mesh aperture of 0.5 mm) with a length of 60 mm and width of 26 mm is mounted on top of a dielectric. In this case, the dielectric with 70 mm in length, 36 mm in width and a thickness of 1 mm, is made of fused silica facilitating transmittance of radiation down to a

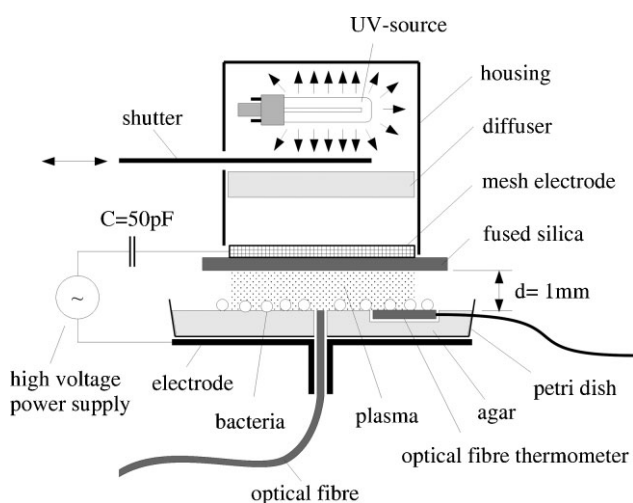


Figure 1. Schematic of experimental setup and diagnostics.

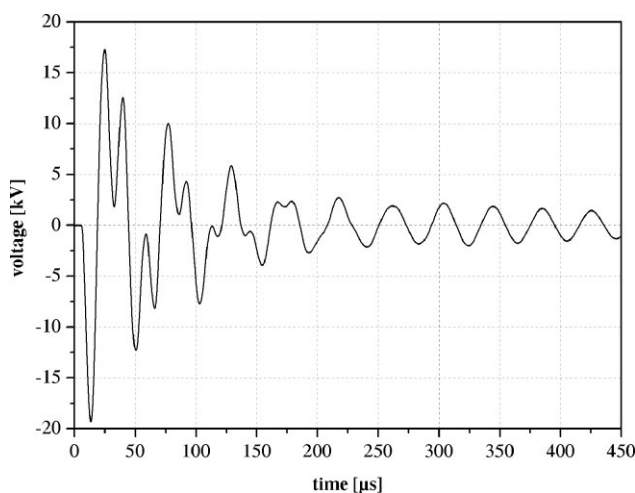


Figure 2. Pulse shape of output voltage applied to mesh electrode.

wavelength of  $\lambda = 200\text{ nm}$ . A counter electrode made of aluminium is attached on the Petri dish holder. By applying high voltage pulses between the mesh electrode covered by the dielectric plate and the counter electrode, electrical field vectors perpendicular to the agar surface are generated. At breakdown conditions, the discharge ignites in the air gap between the dielectric and the agar. The plasma propagates in the multi-filamentary mode, consisting of stochastically distributed streamers. The power supply generates decaying sinusoidal high voltage pulse packages of some  $100\text{ }\mu\text{s}$  with maximum amplitude of the alternating voltage up to  $20\text{ kV}$  at a fixed repetition rate of  $550\text{ Hz}$  (see Figure 2) and electrical power in the discharge of  $1.85\text{ W}$ , respectively. The electrical parameters were measured by applying high voltage probes 1 000:1 Tektronix P6015A and oscilloscope Yokokawa DL1740EL Dual  $500\text{ MHz}$ . Energy dissipated into the discharge was calculated using the Lissajous figure method as described in an earlier work.<sup>[18]</sup> For the implementation of the method a capacitor of  $50\text{ pF}$  is connected in series between the grid electrode and the high-voltage-supply.

The special design of the set-up allows sequential as well as simultaneous plasma and UV-C treatment of the samples. Stable UV-C intensity of  $0.16\text{ W}\cdot\text{cm}^{-2}$  during test series was ensured by pre-heating of the low-pressure mercury lamp TUV PL-S 9W/2P (Philips, Hamburg, Germany) and use of a shutter system. To ensure a uniform illumination in the treatment area, a diffuser is mounted between shutter and electrode. The intensity of the radiation was measured with a calibrated X1-1 Optometer and detector head UV-3719-4a(z) (Gigahertz-Optik, Tuerkenfeld, Germany) at a distance of  $1\text{ mm}$  between detector head and silica interface.

## Temperature

The thermal impact of the plasma on microorganisms was estimated by igniting the discharge on the surface of  $20\text{ mL}$  agar medium in a Petri dish. The temperature was measured by an optical fibre thermometer (FISO Technologies Inc., Quebec, Canada) with the fibre head mounted in the plane of the agar surface.

## Biological Samples

Gram-positive *S. epidermidis* was used as test strain in all experiments. Therefore, stock suspension of viable *S. epidermidis* was serially diluted in lysogeny broth (LB). A volume of 800  $\mu\text{L}$  of the suspension was rinsed on agar plates of constant volume (20 mL) in a Petri dish (90 mm diameter). The standard growth media was LB with a pH value of 7.0. For another test series, the synthetic buffer 3-*N*(Morpholino) propane sulfonic acid (MOPS) was added at a concentration of  $10.46 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ . The bacteria suspension led to an average cell density of 43 colony forming units per centimetre square ( $\text{CFU} \cdot \text{cm}^{-2}$ ) on each Petri dish. Before treatment, the plates were stored for 1 h at a temperature of 310 K, so that the water content of the suspension could penetrate into the agar bulk. After treatment, the agar plates were incubated at 310 K for another 18 h for CFU counts. All experiments were repeated at least three times unless stated otherwise.

## Spectroscopy and Fluorescence Microscopy

Optical emission spectroscopy (OES) measurements of the plasma and the UV source were carried out using a spectrometer EPP2000C (StellarNet Inc., Tampa, Florida) operating in the wavelength region 190–850 nm. For this purpose an optical fibre STE-F1000-UV/VIS-SR (Laser2000 Ltd., Munich, Germany) was mounted in the centre of the sample holder with the fibre entrance arranged directly in the plane of the agar surface.

For analysis of cell membrane the LIVE/DEAD BacLight bacterial kit (Invitrogen Corp., Eugene, USA) was applied. In this dual staining procedure cells are diluted in two different DNA-binding dyes SYTO9 (green fluorescence) and propidium iodide (red fluorescence). While propidium iodide is impermeant and generally excluded from viable cells, SYTO9 diffuses through the intact cell membrane and binds cellular DNA. When the integrity of the cell membrane is disrupted propidium iodide enters the cell and intercalates with DNA resulting in enhanced fluorescence of red stain inside the cell.

Bacteria samples were stained on object plates and masked by a cover slip. Then, cell counts were performed applying a microscope Axioplan 2 with mercury lamp HBO 100 and filter set 09 (Carl Zeiss AG, Jena, Germany).

## Measurement of pH Values

The pH value was potentiometrically measured using two pH-meters, which were used depending on the type of medium. In liquid media a Microprocessor pH-meter pH 538 equipped with SenTix 41 detector (WTW Ltd., Weilheim, Germany) was used while the pH value on the surface of solid agar in Petri dishes was measured with a glass electrode Derma Unit SSC 3 (Courage + Khazaka electronic Ltd., Cologne, Germany).

## Numerical Simulation of pH on Agar Surfaces

The in situ metrological measurement of pH values on agar plates is not possible during plasma treatment. Due to diffusion

processes of plasma generated acid constituents into the medium bulk, pH values on plasma treated agar surfaces are strongly dependent on time and space. Therefore, a one-dimensional numerical model was created for the solution of Fick's diffusion Equation (1):

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (1)$$

Hereby,  $D$  is the diffusion coefficient in  $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ,  $c$  denotes the oxonium ion ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) concentration in  $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ ,  $t$  is time in s and  $x$  is the spatial coordinate in the axis normal to the agar surface in m, respectively. The numerical differentiation was carried out by the Forward-Time Central-Space (FTCS) method which is known to be numerically stable and convergent.<sup>[19]</sup> The formula is explicitly formulated in Equation (2):

$$c_i^{m+1} = D_{\text{ox}} \Delta t \frac{c_{i-1}^m - 2c_i^m + c_{i+1}^m}{\Delta x^2} + c_i^m \quad (2)$$

Index  $m$  is the discrete time step and index  $i$  marks the spatial coordinate. For the simulation, a time step  $\Delta t = 1 \text{ ms}$  and spatial resolution  $\Delta x = 10 \mu\text{m}$  were chosen. The grid consisted of 300 cells to represent experimental conditions. For reasonable results production rate of oxonium ions and the diffusion coefficient of the media need to be defined. Oxonium production rate can be approximated experimentally via Equation (3) by time resolved pH measurements of plasma treated un-buffered deionised water at constant volume which yield a diffusion flux of  $k_{\text{ox}} = 1.46 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$ .

$$c_{\text{ox}} \approx 10^{-\text{pH}} \quad (3)$$

For this approach complete dissociation is assumed. This flux is then implemented into the model by defining the boundary of the grid cell with spatial coordinate  $i=0$  as a source. In contrast, the diffusion coefficient was not measured but initially estimated and then successively corrected by comparing simulated and measured results. This iterative process yielded  $D_{\text{ox}} = 2.8 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . With respect to the buffer effect of the growth medium, simulated oxonium concentrations were transformed into pH values by means of an indexed access to a titration curve. The respective titration curves of both media types have been determined experimentally, filed and implemented as look-up tables. Output data of the model is the time resolved pH value of the upper grid cell with respect to the buffer capacity of the media.

## Scanning Electron Microscopy Analysis

To study the morphology of plasma treated *S. epidermidis*, bacteria samples were investigated by scanning electron microscopy (SEM) applying a Leo Supra 35 (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Germany). Pieces of plasma treated bacteria on agar surface were cut from Petri dishes and placed on specimen holders. These were stored in a desiccator for 3 days and coated with gold layers of approx. 25 nm thickness to increase signal strength.

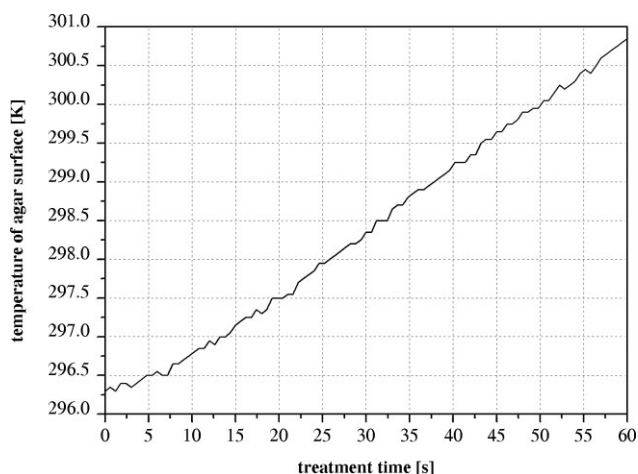


Figure 3. Temperature measured by optical fibre thermometer in the surface of the agar medium as a function of plasma treatment at power density of  $119 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ .

## Results and Discussion

### Temperature

The spatially averaged temporal evolution of agar temperature near the surface is shown in Figure 3. After 12 s plasma treatment, the temperature increased about  $\Delta T = 0.6 \text{ K}$  indicating minimal thermal impact on bacteria in our experiments. However, measured values are spatially averaged while filamentary discharges occupy transient and strong temperature gradients.<sup>[20]</sup>

### Spectral Analysis

In Figure 4 emission spectra of UV source and plasma source are depicted. As both spectra are recorded by a fibre at constant position in the agar surface plane, intensities can be compared relatively. The UV-C source has high

irradiances at a main wavelength of  $\lambda = 253.5 \text{ nm}$  and minor emission in the UV-A and VIS. In contrast, plasma emits in the UV-A and UV-B with a central wavelength at  $\lambda = 337.0 \text{ nm}$ . In this case, radiation originates from electronically excited nitrogen molecules of the surrounding air by electronic excitation and spontaneous emission from second positive system of  $\text{N}_2$  and first negative system of  $\text{N}_2^+$ . Comparing relative spectral intensities, values for plasma emission are roughly four orders of magnitude lower than those of UV emission. It is well known, that photons with  $\lambda \leq 320 \text{ nm}$  can cause dimerisation of thymine bases. This effect is most efficient at wavelengths around  $260 \text{ nm}$ .<sup>[21]</sup> From the fact that inactivation characteristics of UV and plasma treatment are comparable in this work (for un-buffered media) and considering spectral distribution and relative intensities, we do not expect photon induced dimerisation of bacteria by plasma emission to contribute significantly to inactivation.

### Inactivation of *S. epidermidis*

Vegetative state of *S. epidermidis* residing on the solid–gas-interface can be inactivated by DBD treatment with power density of  $119 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ . Characteristics of inactivation are depicted in Figure 5. The time constant for a 1-log reduction on un-buffered media is  $D_{\text{DBD;LB}} = 5.6 \text{ s}$  and  $D_{\text{DBD;MOPS}} > 12 \text{ s}$  on buffered growth media, respectively. For comparison, also UV-C inactivation by radiation at wavelength  $\lambda = 253.5 \text{ nm}$  is studied. Experimental data suggest time constants of  $D_{\text{UV;LB}} = 5.1 \text{ s}$  and  $D_{\text{UV;MOPS}} = 6.8 \text{ s}$ . Calculating UV-C dose for 1-log reduction yields  $0.8\text{--}1.1 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$  which is below literature data of  $2.1 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$  for *S. epidermidis* (formerly known as *S. albus*).<sup>[21]</sup>

An interesting result is that after plasma dose for 1-log reduction on un-buffered media still 80% of microorganisms are viable on buffered media. This observation indicates a pH-dependency of plasma induced bactericidal efficacy.

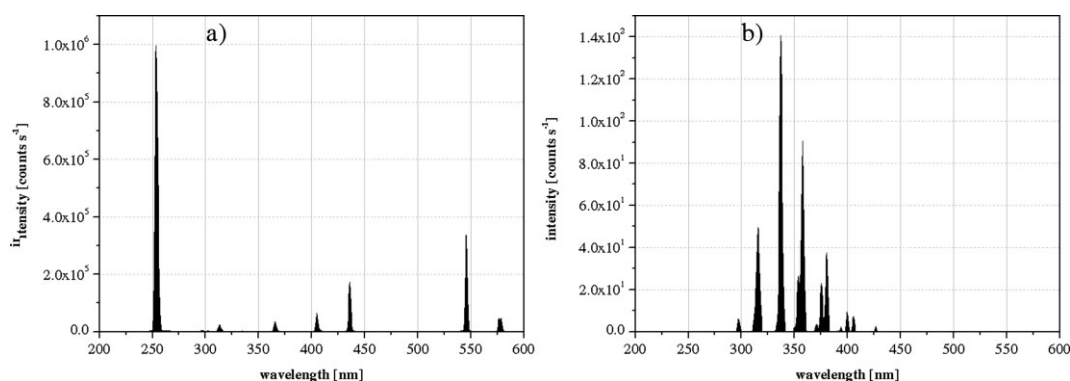


Figure 4. Spectral distribution and relative intensities of a) UV source and b) plasma source on the agar surface.



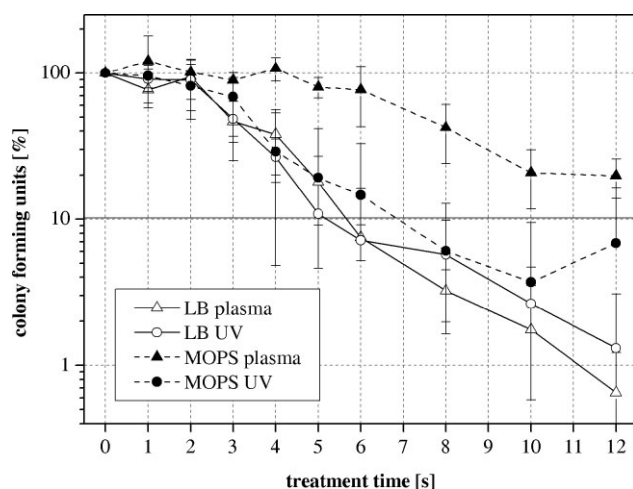


Figure 5. Inactivation of vegetative *S. epidermidis* by exposure to DBD plasma and UV-C radiation on buffered (MOPS) and un-buffered (LB) agar medium.

### pH of Growth Media

In recent studies, the influence of plasma at atmospheric pressure air on pH has been reported. The formation of nitric acid ( $\text{HNO}_3$ ) and nitrous acid ( $\text{HNO}_2$ ) as well as hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) have been identified to contribute to pH shifts of growth media and suspensions.<sup>[14,22,23]</sup>

Using the numerical procedure described earlier in this work, time dependent pH values of the agar surface for plasma treatment up to 300 s are calculated. As depicted in Figure 6, simulated and experimental data are in good agreement thus validating the numerical approach. With this model the temporal developing

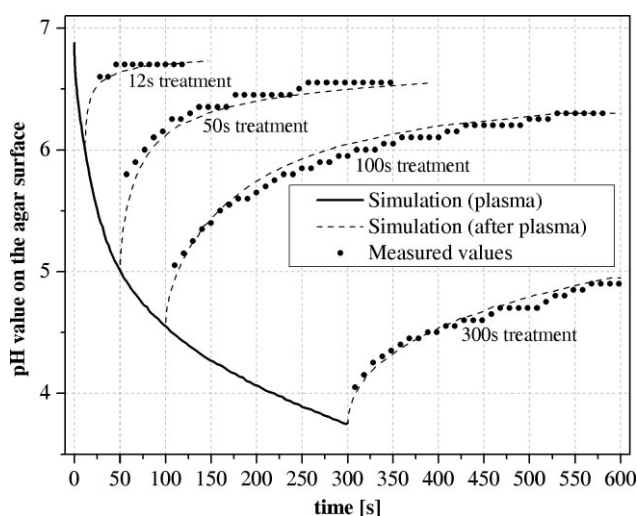


Figure 6. Simulated and experimental data for time dependent pH values on the agar surface at plasma treatment of 12 s, 50 s, 100 s and 300 s.

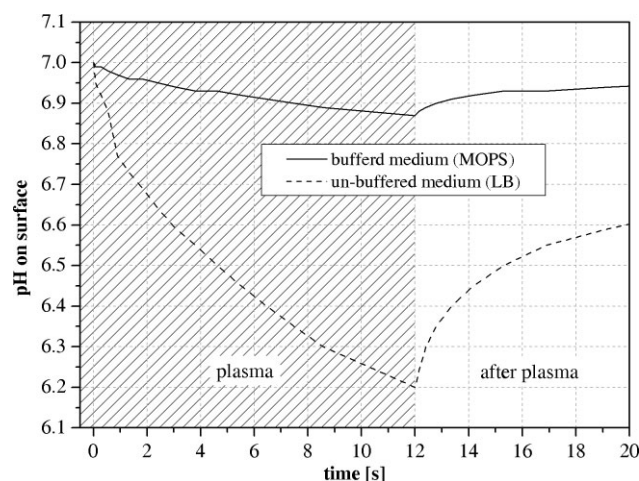


Figure 7. Simulated temporal behaviour of pH values on agar surfaces at DBD treatment for 12 s.

of pH values for buffered and un-buffered culture media during plasma treatment of 12 s is calculated. The results in Figure 7 depict that pH changes of buffered media are of the order of 0.1 while on the other hand for un-buffered media the pH decreases about 0.8 to a minimum value of 6.2.

Consequently, to study the role of pH in the inactivation of *S. epidermidis*, two viability tests were performed. First, 50  $\mu\text{L}$  samples of stock suspension were suspended in 50 mL of liquid LB medium which had been titrated to various pH with nitric acid  $\text{HNO}_3$  followed by incubation for 16 h. To quantify the growth of bacteria, the optical density (OD) of the solution was measured at  $\lambda = 600 \text{ nm}$  using a DU 640 Spectrophotometer (Beckmann Coulter, Brea, USA). The variability of the absorption in the media associated to different pH-values was taken into account by performing a differential measurement. For this purpose, the OD was measured before and after incubation. In a second viability test, 50  $\mu\text{L}$  samples of bacteria suspension were centrifuged and cell pellets were re-suspended with 1 mL LB media of various pH titrated with  $\text{HNO}_3$ .

After incubation for 10 min at 310 K microorganisms were washed in neutral LB media. Bacteria were then re-suspended in phosphate buffered saline and samples were extracted for fluorescence microscopy. Results of both test series are presented in Figure 8. Growth of *S. epidermidis* in aqueous acidic environment starts to diminish below pH values of 6 and is completely inhibited below 4. Only minor damage to cell membrane can be observed at pH 4, while collapse of the cell membrane function can be found for pH values below 3. These results clearly state that solely the pH value of 6.2, which is induced by plasma treatment in case of un-buffered media, cannot significantly inactivate bacteria. Yet, as a contemporaneous element of plasma,

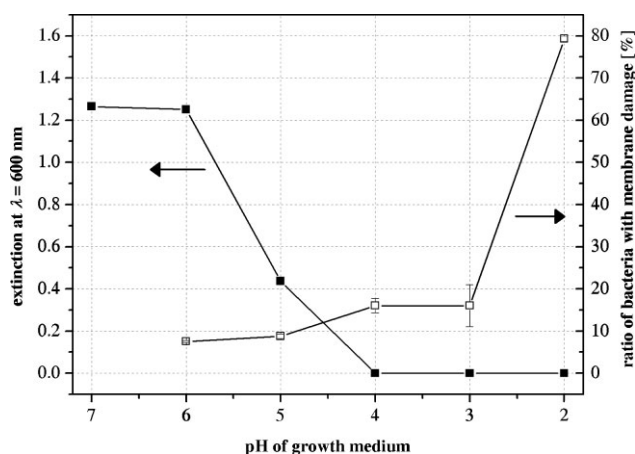


Figure 8. Growth of incubated bacteria for 16 h (■) and ratio of cells with membrane damage (□) after incubation for 10 minutes in liquid LB media of various pH.

the pH value contributes to bactericidal plasma efficacy indicating synergistic effects.

### Cell Morphology

Results of SEM analysis in Figure 9 show monolayers of microorganisms and reveal no morphological damage to the microorganisms even after 60 s plasma treatment. Xingmin et al.<sup>[24]</sup> observed explicit structural damage on Gram-positive and Gram-negative bacteria as well as spores after plasma treatment. In their study, the DBD was driven at 50 Hz sine wave with a discharge power of 0.3 W leading to an energy deposition of 6 mJ per cycle and energy density of  $1.5 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ . A comparable amount of energy is transported in our work but at distinctly lower density of  $0.2 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$ . Therefore we attribute the difference in the observations made by SEM to the

difference in energy density. Kamgang et al.<sup>[25]</sup> also observed no morphological damage on *S. epidermidis* after plasma treatment yet they used a gliding arc discharge. Choi et al. used a comparable experimental setup which was driven by negative DC pulses with an amplitude of 18 kV and a repetition rate of 2 kHz. Under these conditions they verified structural damage to Gram-negative *E. coli* after 30 s but energy density remains unknown.<sup>[13]</sup>

### Cell Membrane Function

Microorganisms were treated with plasma and UV on the agar surface for up to 60 s. Immediately after exposure, cells were extracted from the surface using an inoculating loop, subsequently dissolved in liquid stain and analysed by fluorescence microscopy. In Figure 10 green and red fluorescence indicate live and membrane compromised bacteria, respectively. To correlate these results with the observations made on growth analysis of bacteria, the ratio of dead cells over treatment time is depicted in Figure 11. The results reveal that after 1 s plasma treatment 84% of bacteria have compromised membrane functions. After 12 s treatment this rate between dead and viable cells rises to 92%. The experimental data suggest that membranes of nearly 90% of the bacteria are damaged after 6 s plasma exposure. The rapid inactivation of cell membrane function together with the fact that no morphological damage was observed even after the sixfold plasma dose for 1-log reduction renders the cell membranes of *S. epidermidis* particularly vulnerable against plasma. This finding is in good agreement with the suggestion by Montie et al.<sup>[1]</sup> for the bactericidal effect of the one atmosphere uniform glow discharge plasma. Less damage to membranes can be observed for the UV-C treatment while this effect has also been reported by Sommers et al.<sup>[26]</sup> for Gram-positive *Listeria monocytogenes*.

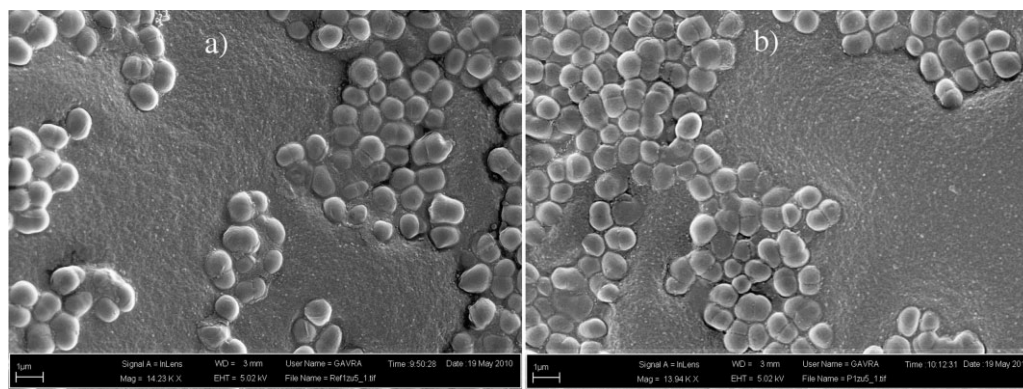
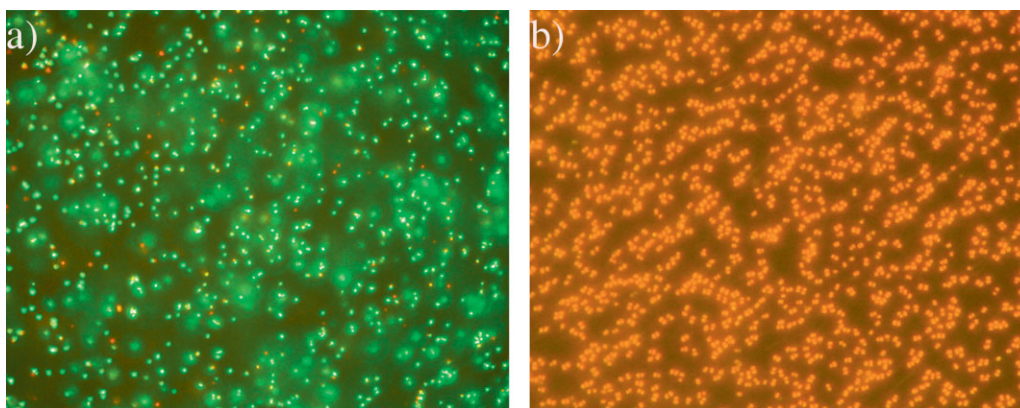


Figure 9. SEM images of a) control and b) *S. epidermidis* exposed to DBD plasma for 60 s.





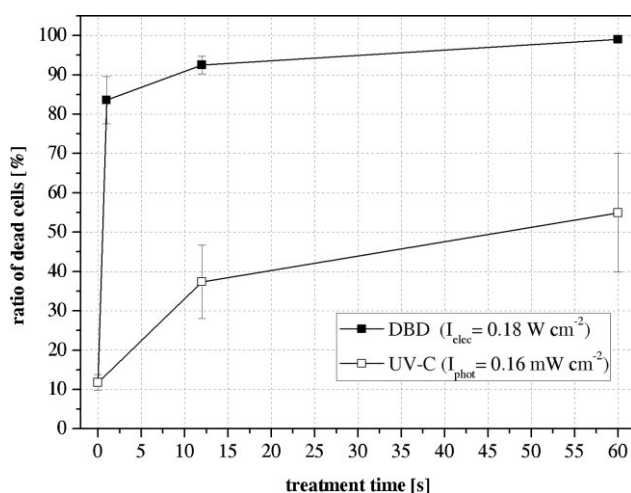
■ Figure 10. Fluorescent images of a) control and b) *S. epidermidis* exposed to DBD plasma for 60s.

### DNA Analysis

To verify if bacterial DNA is affected by DBD treatment, bacterial load of 15 agar plates treated with either plasma or UV is cumulated and the cell walls got lysed following the procedure of Gentra Puregene Yeast/Bacteria Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) for Gram-positive bacteria. Half of the material was then treated with a T4 endonuclease V (Epicentre Biotechnologies, Madison, USA) to transform pyrimidine dimerisation to strand breaks thus facilitating the distinction between dimerisation and degradation of genetic material. The results are presented in Figure 12a for degradation only and Figure 12b for dimerisation and degradation, respectively.

The first band represents the DNA in the sample well, which did not enter the gel matrix and the band near to the position of the marker DNA (10 kb) represents chromosomal DNA. Despite the fact that in the agarose gel the plasma

treated material (lane P) has four times the mass of the references material (lane R), there is obviously less chromosomal DNA material with high base pairs left after electrophoresis. This indicates, in addition to visible smear below 500 base pairs (bp), a degradation and strand breaks of the bacterial DNA caused by plasma treatment of 12 s. Similar effects can be found for a combined plasma and UV exposure (lane P + UV). The result of UV-C treatment is visualised after a 12 s exposure (lane UV1) indicating no DNA fragmentation. This was also found for higher UV-doses of  $0.1 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$  (lane UV2). Figure 12b depicts the same kind of samples, but treated with T4 endonuclease. The smear in lane UV1 and more pronounced in lane UV2 indicates the role of pyrimidine dimers in the bactericidal effects of UV-C, but not plasma. It becomes apparent that DBD plasma affects the DNA of *S. epidermidis* differently than UV-C radiation as direct degradation can be observed independently from endonuclease treatment at a plasma energy density of  $1.42 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$  applied in 12 s. This finding supports the conclusion made earlier that plasma UV emission is not a primary mechanism for inactivation. Yasuda et al.<sup>[27]</sup> also found DNA degradation of vegetative Gram-negative *E. coli* and bacteriophage- $\lambda$  in liquid media exposed to DBD. However, results are difficult to compare as bactericidal effects depend on plasma doses as well as genus and state of microorganisms and data about DNA analysis of plasma treated Gram-positive bacteria are sparse. For eukaryotic human cells, a dose-dependent influence of plasma treatment on DNA has been found in keratinocyte cell lines, yet this effect was shown to be reversible due to repair mechanisms of the cells.<sup>[28]</sup>



■ Figure 11. Ratio of dead cells determined by viability assay BacLight for DBD plasma and UV-C treatment of 1 s, 12 s and 60 s.

### Inactivation Mechanism

In view of the facts that microorganisms show no morphological damage, plasma induced UV intensities are very small compared to lethal doses, negligible thermal impact on the cells and the observation that 1-log reduction

in CFU viability experiments is achieved within the same treatment duration leading to 90% membrane damage of microorganisms, we attribute the major cause for cell inactivation in this work to cell death due to membrane damage induced by DBD treatment.

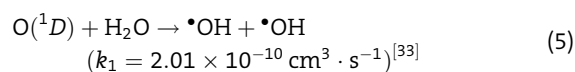
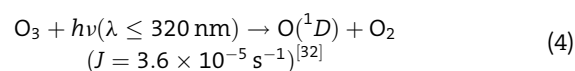
The complex chemistry of atmospheric air plasmas acts as a source of ROS as well as reactive nitrogen species (RNS) as demonstrated in the works of Kossyi et al.<sup>[29]</sup> or Dorai and Kushner.<sup>[30]</sup>

The sum of the following indications lead to our thesis, that radicals and especially  $\bullet\text{OH}$  are significantly involved in the killing of bacteria by DBD plasma:

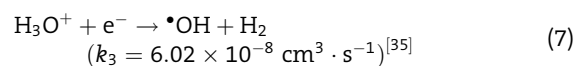
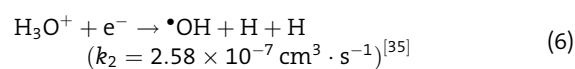
- $\bullet\text{OH}$  can be effectively generated in the presence of water, ozone and UV,
- $\bullet\text{OH}$  can be generated even more effectively in acidic milieu,
- $\bullet\text{OH}$  can induce cell membrane damage,
- $\bullet\text{OH}$  can lead to degradation of DNA.

The rationale for these indications are as follows. DBD plasma at experimental conditions in this work is predicted to be an efficient source of ozone  $\text{O}_3$  and possesses two emission lines ( $\lambda = 315.6 \text{ nm}$  and  $\lambda = 297.5 \text{ nm}$ ) which might contribute to the formation of  $\bullet\text{OH}$  in the presence of water available from growth medium according to

Equations (4) and (5).<sup>[31]</sup>



From the fact that MOPS can act as scavenger for radicals like  $\bullet\text{OH}$  and additionally has lower concentration of oxonium ions, we assume a higher concentration of radicals contributing to bactericidal effect on LB medium due to high rate coefficients of reactions (6) and (7).<sup>[34]</sup>

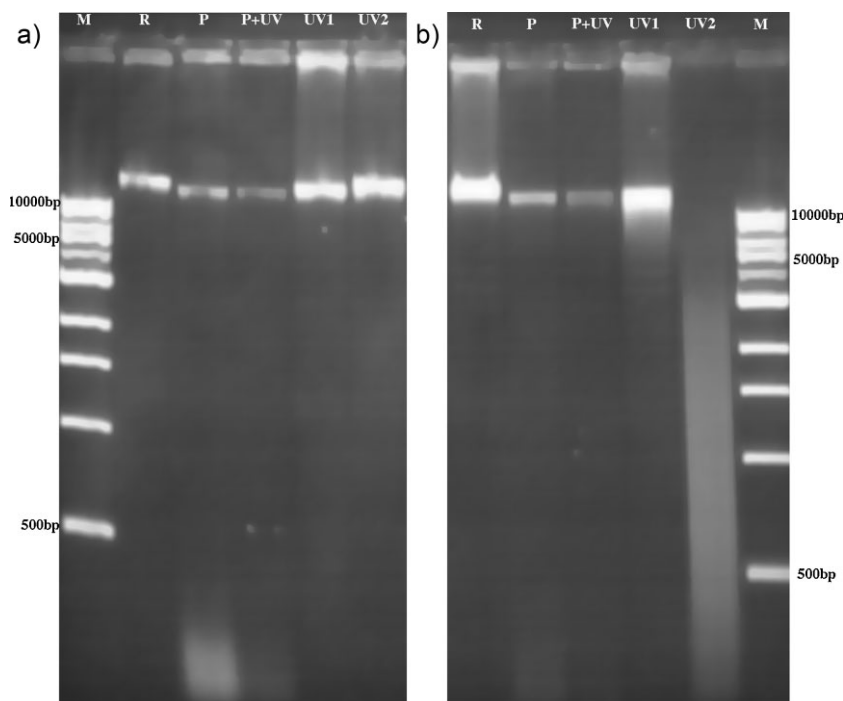


This effect might also explain the differences in bactericidal efficacy observed in our growth experiments.

A well-established mechanism affecting cell membrane is lipid peroxidation which is initiated by radicals. Well known initiators of lipid peroxidation are the highly reactive hydroxyl radical  $\bullet\text{OH}$ , super oxygen  $\text{O}_2^-$ , singlet oxygen  $\text{O}_1 \Delta_g$  as well as hydrogen peroxide  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Still,  $\text{O}_2^-$  as well as  $\text{H}_2\text{O}_2$  are far less reactive than is  $\bullet\text{OH}$ .<sup>[36]</sup> Furthermore, chain reactions like the formation of peroxynitrite  $\text{ONOO}^-$  by super oxygen  $\text{O}_2^-$  and nitric oxide  $\bullet\text{NO}$  produce further initiators.<sup>[37]</sup> Oxidation by  $\bullet\text{OH}$  can also lead to DNA damage through degradation of deoxyribose and might explain direct degradation of DNA made visible in electrophoresis of plasma treated *S. epidermidis*.<sup>[38]</sup>

## Conclusion

Our investigations state that the application of DBD on bacteria at the gas–solid–interface of culture media is suitable to inactivate *S. epidermidis*. A 1-log reduction of the bacterial load can be achieved within 5–6 s. The plasma generated UV emission and thermal impact of the discharge are no major components for inactivation in our setup. In fact, we observed a synergistic contribution of acidic milieu to bactericidal plasma efficacy. Within the time frame of



**Figure 12.** Electrophoresis with DNA of *S. epidermidis* with M: New England Biolabs 1 kb DNA Ladder, R: reference (100 ng), P: plasma treatment for 12 s (400 ng), P + UV: simultaneous plasma and UV-C treatment for 12 s (400 ng), UV1: UV-C dosage of  $1.9 \text{ mJ} \cdot \text{cm}^{-2}$  at 12 s (400 ng), and UV2: UV-C dosage of  $0.1 \text{ J} \cdot \text{cm}^{-2}$  (200 ng). In a) only direct degradation is shown while specimens in b) were additionally treated with endonuclease.

seconds, DBD exposure led to compromised cell membranes of the bacteria indicating not only bacteriostatic but bactericidal effects. From the temporal conformity of bacteria membrane damage and 1-log reduction in growth studies we conclude, that the membrane damage is a main mechanism that is directly associated to the inactivation of bacteria. In addition to membrane damage, plasma treatment may also directly or indirectly damage bacterial DNA.

**Acknowledgements:** This work was funded by the German Federal Ministry of Education and Research (BMBF), contract 17PNT001, under the supervision of Markus Remppe, AiF PT-FH in Cologne, Germany and the joint research project 'Campus PlasmaMed' (grant no. 13N9779). The authors would like to thank Dr. Ortrud Zimmermann from the Institute of Medical Microbiology at the Georg August University Goettingen for providing the microorganisms. Fruitful discussions with Dr. Georg Daeschlein from the Department of Dermatology of the Ernst Moritz Arndt University Greifswald as well as methodical and technical support on the electrophoresis and fluorescence experiments by Dr. Petra Moehlenhoff, Ulrich Fritz and Dr. Karin Petersen from the Department of Preservation of Cultural Heritage at the University of Applied Sciences and Arts in Hildesheim are gratefully acknowledged.

This article has been amended and replaced on May 5, 2011 to correct figure 10 into color.

Received: November 12, 2010; Revised: November 26, 2010; Accepted: December 3, 2010; DOI: 10.1002/ppap.201000168

**Keywords:** bactericidal; cold plasma; dielectric barrier discharges; methicillin-resistant *S. epidermidis* (MRSE); UV-irradiation

- [1] T. C. Montie, K. Kelly-Winterberg, J. R. Roth, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **2000**, *21*, 41.
- [2] M. Laroussi, *Plasma Process. Polym.* **2005**, *2*, 391.
- [3] R. Brandenburg, J. Ehlbeck, M. Stieber, T. V. Woedtke, J. Zeymer, O. Schlueter, K.-D. Weltmann, *Contrib. Plasma Phys.* **2007**, *47*, 72.
- [4] G. Fridman, A. D. Brooks, M. Balasubramanian, A. Fridman, A. Gutsol, V. N. Vasilets, H. Ayan, G. Friedman, *Plasma Process. Polym.* **2007**, *4*, 370.
- [5] T. Shimizu, B. Steffes, R. Pompl, F. Jamitzky, W. Bunk, K. Ramrath, M. Georgi, W. Stolz, H.-U. Schmidt, T. Urayama, S. Fujii, G. E. Morfill, *Plasma Process. Polym.* **2008**, *5*, 577.
- [6] K.-D. Weltmann, R. Brandenburg, T. von Woedtke, J. Ehlbeck, R. Foest, M. Stieber, E. Kindel, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2008**, *41*, 194008.
- [7] P. Awakowicz, N. Bibinov, M. Born, B. Busse, R. Gesche, A. Helmke, A. Kaemling, V. Kolb-Bachofen, R. Kovacs, S. Kuehn, J. Liebmman, N. Mertens, U. Niemann, C. Oplaender, H.-E. Porteanu, J. Scherer, C. Suschek, W. Vioel, D. Wandke, *Contrib. Plasma Phys.* **2009**, *49*, 641.
- [8] K.-D. Weltmann, E. Kindel, R. Brandenburg, C. Meyer, R. Bussiahn, C. Wilke, T. von Woedtke, *Contrib. Plasma Phys.* **2009**, *49*, 631.
- [9] K.-D. Weltmann, E. Kindel, T. von Woedtke, M. Haehnel, M. Stieber, R. Brandenburg, *Pure Appl. Chem.* **2010**, *82*, 1223.
- [10] S. G. Joshi, M. Paff, G. Friedman, G. Fridman, A. Fridman, A. D. Brooks, *Am. J. Infect. Control* **2010**, *38*, 293.
- [11] F. Leipold, Y. Kusano, F. Hansen, T. Jacobsen, *Food Control* **2010**, *21*, 1194.
- [12] M. Laroussi, F. Leipold, *Int. J. Mass Spectrom.* **2004**, *233*, 81.
- [13] J. H. Choi, I. Han, H. K. Baik, M. H. Lee, D.-W. Han, J.-C. Park, I.-S. Lee, K. M. Song, Y. S. Lim, *J. Electrostat.* **2006**, *17–22*, 143701.
- [14] K. Oehmigen, M. Haehnel, R. Brandenburg, C. Wilke, K.-D. Weltmann, T. von Woedtke, *Plasma Process. Polym.* **2010**, *7*, 250.
- [15] H. Ayan, D. Staack, G. Fridman, A. Gutsol, Y. Mukhin, A. Starikovskii, A. Fridman, G. Friedman, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2009**, *42*, 125202.
- [16] G. Daeschlein, T. von Woedtke, E. Kindel, R. Brandenburg, K.-D. Weltmann, M. Juenger, *Plasma Process. Polym.* **2010**, *7*, 224.
- [17] W. Ziebuhr, S. Hennig, M. Eckart, H. Kränzler, C. Batzilla, S. Kozitskaya, *Int. J. Antimicrob. Agents* **2006**, *28*, 14.
- [18] A. Helmke, D. Hoffmeister, N. Mertens, S. Emmert, J. Schuette, W. Vioel, *New J. Phys.* **2010**, *11*, 115025.
- [19] K. W. Morton, D. F. Mayers, "Numerical Solution of Partial Differential Equations: An Introduction," 2nd edition, Cambridge University Press, Cambridge 2005.
- [20] M. Kuchenbecker, N. Bibinov, A. Kaemling, D. Wandke, P. Awakowicz, W. Vioel, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2009**, *42*, 045212.
- [21] T. P. Coohill, J.-L. Sagripanti, *Photochem. Photobiol.* **2008**, *84*, 1084.
- [22] Y. Z. Tang, X. P. Lu, M. Laroussi, F. C. Dobbs, *Plasma Process. Polym.* **2008**, *5*, 552.
- [23] F. Liu, P. Sun, N. Bai, Y. Tian, H. Zhou, S. Wei, Y. Zhou, J. Zhang, W. Zhu, K. Becker, J. Fang, *Plasma Process. Polym.* **2010**, *7*, 231.
- [24] S. Xingmin, Y. Yukang, S. Yanzhou, Y. Wang, P. Fengling, Q. Yuchang, *Plasma Sci. Technol.* **2006**, *8*, 569.
- [25] J. O. Kamgang, R. Briandet, J. M. Herry, J. M. Brisset, M. Natali, *J. Appl. Microbiol.* **2007**, *103*, 621.
- [26] C. H. Sommers, P. H. Cooke, X. Fan, J. E. Sites, *J. Food Sci.* **2009**, *74*, 114.
- [27] H. Yasuda, M. Hashimoto, M. Rahman, K. Takashima, A. Mizuno, *Plasma Process. Polym.* **2008**, *5*, 615.
- [28] K. Wende, S. Blackert, B. Haertel, S. Holtz, M. Harms, T. von Woedtke, U. Lindequist, Non-thermal atmospheric-pressure plasma as new strategy in wound healing: Interaction of atmospheric pressure plasma in HaCat human keratinocytes, in: ICPM 3, Greifswald 2010, p. 35.
- [29] I. A. Kossyi, A. Y. Kostinsky, A. A. Matveyev, V. P. Silakov, *Plasma Sources Sci. Technol.* **1992**, *1*, 207.
- [30] R. Dorai, M. J. Kushner, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **2003**, *36*, 666.
- [31] U. Kogelschatz, *Plasma Chem. Plasma Process.* **2003**, *23*, 1.
- [32] G. Pfister, D. Baumgartner, R. Maderbacher, E. Putz, *Atmos. Environ.* **2000**, *34*, 4019.
- [33] E. J. Dunlea, A. R. Rabvishankara, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, *6*, 3333.
- [34] B. R. van Dyke, D. A. Clopton, P. Saltman, *Inorg. Chim. Acta.* **1996**, *242*, 57.
- [35] M. J. Jensen, R. C. Bilodeau, C. P. Safvan, K. Seiersen, L. H. Andersen, H. B. Pedersen, O. Heber, *Astrophys. J.* **2000**, *543*, 764.
- [36] B. Halliwell, S. Chirico, *Am. J. Clin. Nutr.* **1993**, *57*, 715.
- [37] R. Radi, J. S. Beckman, K. M. Bush, B. A. Freeman, *Arch. Biochem. Biophys.* **1991**, *288*, 481.
- [38] B. Halliwell, O. I. Aruoma, *FEBS Lett.* **1991**, *281*, 9.

### 5.3 Antimikrobielle Wirksamkeit der Volumen-DBE bei typischen Hautkeimen unter dem Einfluss der Spannungs-Pulslänge

Neben pathogenen Bakterien zählen auch Hefen und Pilze zu den Auslösern von Erkrankungen. Vor allem über die Atemwege aber auch durch eine unzureichende Barrierefunktion der Haut (z.B. Wunden) können pathogene Pilze in den menschlichen Organismus eindringen, innere Organe befallen und eine systemische Infektion auslösen. Diese systemischen Mykosen\* sind sowohl schwer zu diagnostizieren als auch zu behandeln. Sie treten vermehrt bei Menschen mit geschwächtem Immunsystem in Erscheinung und sind mit hohen Sterblichkeitsraten verbunden. Schätzungen zu Folge sterben ebenso viele Menschen an Mykosen wie an Tuberkulose oder Malaria [166]. Daneben gibt es rein oberflächliche Mykosen an der Haut (Dermatomykosen), deren häufigste Erscheinungsform die Hornschicht der Haut befallen und auch als Dermatophytose oder *Pinea* bezeichnet werden [167].

Die in diesem Kapitel beschriebene Studie wurde wie bereits in Kapitel 5.2 unter der übergeordneten Zielstellung konzipiert, Erkenntnisse über die Eignung einer gewebeverträglich parametrisierten Volumen-DBE in Luft als antiseptisches Werkzeug in der Dermatologie zu gewinnen. Zu diesem Zweck wurde zum Einen die Sensitivität verschiedener Haut-Pathogene aus den biologischen Reichen der Bakterien, Hefen und Pilzen gegenüber dem nicht-thermischen Plasma getestet. Zum Anderen wurde der Einfluss eines elektrischen Betriebsparameters auf die Inaktivierungseffizienz evaluiert. Dazu wurde ein komparatives Studienlayout gewählt, bei dem dieselbe dielektrisch behinderte Keramikelektrode mit zwei unterschiedlichen elektrischen Parametersätzen betrieben wurde. Der wesentliche Unterschied zwischen diesen beiden Parametersätzen bestand (bei relativ vergleichbaren Spannungsamplituden von ca. 10,3 kV bzw. 14,1 kV) in der Spannungs-Pulslänge (ca. 2  $\mu$ s bzw. ca. 30 ns). Daraus resultieren unmittelbar stark unterschiedliche Flankensteilheiten der plasmaphysikalisch äußerst relevanten ersten Halbwelle des Pulszugs (ca. 0,01 kV/ns bzw. ca. 0,94 kV/ns). Um die Wirksamkeit der Plasma-Inaktivierung von Hautkeimen primär mit der Spannungs-Pulslänge korrelieren zu können, wurde die elektrische Leistungszufuhr der Elektrode durch Variation der Amplitude der beiden Spannungssignale bei konstanter Pulswiederholfrequenz von 255 Hz auf ein vergleichbares Niveau von  $435 \pm 22$  mW bzw.  $426 \pm 46$  mW eingestellt.

Bei dieser in vitro-Studie wurden ein gram-positives Bakterium (*Staphylo-*

*coccus aureus*), zwei gram-negative Bakterien (*Escherichia coli* und *Pseudomonas aeruginosa*), eine Hefe (*Candida albicans*) und ein Pilz (*Microsporum canis*) verwendet, die auf einer Agaroberfläche für verschiedene Behandlungszeiten mit den beiden nicht-thermischen Plasmen behandelt wurden.

Aus grundlagenorientierten Studien zur Plasmaphysik war bekannt, dass eine hohe Flankensteilheit der Versorgungsspannung ( $dV/dt > 1 \text{ kV/ns}$ ) das Entladungsverhalten einer in atmosphärischer Luft betriebenen Volumen-DBE gezielt beeinflussen und in einen homogenen Modus überführen kann [40, 49]. Eine der ersten anwendungsorientierten Studien im Bereich der Plasmamedizin war die Inaktivierung von *Escherichia coli*, die unter Einsatz üblicher  $\mu\text{s}$ - und entsprechend kurzer ns-Spannungspulse an einer Volumen-DBE in Luft von Ayan *et al.* durchgeführt wurde. Dabei stand das Propagationsverhalten des Plasmas und die qualitativ nachgewiesene anti-bakterielle Wirksamkeit an topografisch ungleichmäßigen Oberflächen im Fokus der Untersuchungen [110]. Die Studie war jedoch nicht auf Keime aus unterschiedlichen biologischen Reichen oder Haut-Pathogene im Speziellen ausgerichtet. Wie bereits im Kapitel 5.2 beschrieben, wurden im Rahmen zahlreicher wissenschaftlicher Studien Nachweise zu den technologischen Potentialen nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen bei der Inaktivierung von Mikroorganismen aus den verschiedenen Reichen und in unterschiedlichen Entwicklungsstadien erbracht. Studienübergreifend ließ sich dabei beobachten, dass Bakteriensporen und Pilze eine geringere Sensitivität gegenüber dem Plasma aufweisen als beispielsweise vegetative oder planktonische Zellen und dass gram-negative Bakterien effizienter inaktiviert werden können als gram-positive Bakterien [84, 148, 150]. Durch Daeschlein *et al.* war bereits für den Bereich der plasmabasierten Antiseptik in vitro die Sensitivität verschiedener Wundkeime (sowie ausgewählter Pilze im Speziellen) gegenüber einem mit Argon betriebenen Plasma-Jet (kINPen 09) getestet worden [123, 168]. Unabhängig voneinander aber nahezu zeitgleich zu den Untersuchungen in diesem Kapitel wurden durch Daeschlein *et al.* ähnlich konzipierte Untersuchungen durchgeführt. So wurde in vitro die Sensitivität von insgesamt 105 klinischen Isolaten von 11 verschiedenen Wundpathogenen gegenüber dem bereits zuvor eingesetzten Plasma-Jet (kINPen 09) sowie erstmalig gegenüber einer Volumen-DBE in Luft getestet [169]. Dasselbe komparative Studienlayout wurde zur Evaluierung der in vivo-Inaktivierungseffizienz an insgesamt 9 Probanden angewendet [126]. Die dabei eingesetzte Volumen-DBE war technisch mit der in diesem Kapitel entwickelten Volumen-DBE vergleichbar: die Elektrode bestand aus einem anderen Keramikmaterial (Macor) und es wurden ausschließlich Signale mit  $\mu\text{s}$ -Spannungs-Pulslängen sowie etwas geringere elektrische Leistungen verwendet.

Die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studie belegen, dass alle verwendeten Haut-Pathogene (Bakterien, Hefen und Pilze) eine dosisabhängige Sensitivität gegenüber beiden Volumen-DBE aufweisen. Die Lebend-Tot-Testung stellt unter Beweis, dass das Plasma dabei nicht nur zu mikrobiostatischen\* sondern sogar zu mikrobiziden\* Effekten an den Zellen führte. Während die Plasmabehandlung bei den Bakterien und der Hefe vergleichbare Inaktivierungseffizienzen aufwies, erwies sich der Pilz als widerstandsfähiger und benötigte unter den experimentellen Bedingungen ca. die fünffache Behandlungsdauer für einen deutlich sichtbaren Inaktivierungseffekt.

Darüber hinaus deuten die Ergebnisse darauf hin, dass kürzere Pulsdauern der Versorgungsspannung bei vergleichbarem Energieeinsatz die Inaktivierungseffizienz positiv beeinflussen. Obwohl das Studienlayout nicht auf die Aufklärung von Mechanismen ausgerichtet war, ließen sich aus den Wachstumsuntersuchungen dennoch Hinweise ableiten. So entsprach beispielsweise die Inaktivierungsfläche auf den Agaroberfläche nahezu exakt der Elektrodengrundfläche mit einer scharfen Abgrenzung zu nicht behandelten Bereichen. Dieser experimentelle Befund deutet darauf hin, dass kurzlebige Plasmaspezies (u.a. Radikale, Ionen, Elektronen) sowie hohe elektrische Feldstärken einen signifikanten Einfluss auf die Inaktivierungseffizienz nicht-thermischer Atmosphärendruckplasmen im Arbeitsgas Luft haben.

Die beschriebenen Untersuchungsreihen wurden in dem nachfolgenden Artikel publiziert:

Quelle:

Andreas Helmke, Petra Grünig, Ulrich-Markus Fritz, Dirk Wandke, Steffen Emmert, Karin Petersen, Wolfgang Viöl:

*Low temperature Plasma - a Prospective Microbicidal Tool.*

Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery. 2012. Vol. 7. 223-230.

Copyright Bentham Science Publishers.

# Low-temperature Plasma - a Prospective Microbicidal Tool

Andreas Helmke<sup>1,\*</sup>, Petra Grünig<sup>2</sup>, Ulrich-Markus Fritz<sup>3</sup>, Dirk Wandke<sup>4</sup>, Steffen Emmert<sup>5</sup>, Karin Petersen<sup>3</sup> and Wolfgang Viöl<sup>1</sup>

<sup>1</sup>HAWK University of Applied Sciences and Arts, Faculty of Natural Sciences and Technology, Von-Ossietzky-Str. 99, 37085 Goettingen, Germany; <sup>2</sup>HAWK University of Applied Sciences and Arts, Faculty of Management, Social Work, Construction, Haarmannplatz 3, 37603 Holzminden, Germany; <sup>3</sup>HAWK University of Applied Sciences and Arts, Faculty of Preservation of Cultural Heritage, Bismarckplatz 10/11, 31135 Hildesheim, Germany; <sup>4</sup>CINOGY GmbH, Max-Naeder-Str. 15, 37114 Duderstadt, Germany; <sup>5</sup>Georg August University Goettingen, Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Robert-Koch-Str. 40, 37075 Goettingen, Germany

Received: April 20, 2012; Accepted: April 21, 2012; Revised: April 21, 2012

**Abstract:** The effects of low-temperature plasma treatment on microorganisms typically related to skin diseases are studied qualitatively by the inhibition of growth and viability assays to evaluate the potential for classifying as a prospective antiseptic agent. A variety of microorganisms enveloping gram-negative and gram-positive bacteria as well as one genus of yeast and fungus each were exposed to plasma *in vitro*. In a comparative approach, two power supplies, both of which produce high voltage pulses yet at different temporal characteristics, are applied for the growth study. While operation with both devices led to growth inhibition of all microbes, the results indicate a superior antimicrobial efficacy for high voltage pulse lengths in the nanosecond scale. Fluorescence assays reveal the efficacy of nanosecond-pulse driven plasma in reducing germ viability. Furthermore, the technical background for patents related to low-temperature plasma technology in the field of plasma medicine is discussed.

**Keywords:** Antiseptic, candida albicans, dermatology, escherichia coli, low-temperature plasma, microsporum canis, pseudomonas aeruginosa, staphylococcus aureus.

## INTRODUCTION

The term plasma, in the framework of this study, indicates an ionized gas in a wide range of parameters such as density and temperature and must not be confused with blood plasma. In the universe, plasma is the dominant state of matter while on earth it can only be generated technically, e.g., by electrical gas discharges. Hereby, due to the energy gained from strong electric fields, a formerly inert gas is transformed into the plasma state and which additionally consists of species like free electrons and ions, atoms (through dissociation of molecules) as well as excited species and their associated photons. Depending on the initial gas composition, chemical reactions of these partly instable species lead to the formation of a complex species mixture.

At atmospheric pressure, plasma in the easiest configuration of two metallic electrodes develops in the form of arcs which are usually applied in material processing. These plasmas are characterized by high current densities and high collision frequencies by both of which the formation of a thermal equilibrium in the gas volume is encouraged. Consequently, featuring gas temperatures of several thousand degrees Celsius, arc plasmas are far from being suited for the targeted tissue-tolerable medical applications, e.g., therapy of skin lesions like wounds or superinfected eczema [1, 2].

However, by particular constructive measures and appropriate electrical circuits, electrical gas discharges at atmospheric pressure can be utilized for the generation of low-temperature plasmas. An approved technical concept for the realization of low-temperature plasmas at atmospheric pressure is the dielectric barrier discharge (DBD) first described by *von Siemens* in 1857 for the generation of ozone [3]. Hereby, a dielectric between two high voltage electrodes restricts the current density. The plasma usually propagates in tiny breakdown channels, the so called *microdischarges*. These are almost of cylindrical shape at a radius of about  $10^{-4}$  m and appear stochastically distributed over the electrode area. In the strong electric fields, nameable energy gain is limited to electrons which redistribute their energy in the *microdischarges* by collisions with heavy particles (molecules, atoms) and thus leads to dissociation, excitation and ionization. Consequently, once started by electron impact, within very different timescales ( $10^{-10}$  s - 1 s), a reactive mix of excited atoms and molecules, UV photons, charged particles as well as reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS) is formed in the *microdischarges* operated in air. The species composition and density depends strongly on process parameters, e.g. gas composition, humidity, gas temperature, energy density and local electric fields. It is worth noting that species of sufficient lifetime can be transported into the surroundings via diffusion processes. The interested reader is referred to the literature for more details about plasma chemistry [4, 5]. As *microdischarges* are self-terminated within only some  $10^{-8}$  s, operating DBDs at alternating voltage is imperative to sustain the plasma [6].

\*Address correspondence to this author at the Faculty of Sciences and Technology, University of Applied Sciences and Arts, Von-Ossietzky-Str. 99, 37085 Goettingen, Germany; Tel: +49(0)551/3705-360; Fax: +49(0)551/3705-206; E-mail: helmke@hawk-hhg.de



Within the short lifetimes of *microdischarges*, a thermal equilibrium of neutral gas species with electrons cannot be established. Consequently, the mean electron energy with values of 1-10 eV (corresponding to a temperature equivalent of 7,000 - 77,000 °C) is high, while the temperatures of ions and neutrals (the gas temperature) are considerably lower. In fact, gas temperatures can be adjusted close to room temperature by, e.g., operating the DBD in pulsed mode at pulse repetition rates of a few hundred Hertz [7].

During the last decade, various low-temperature plasma sources have been developed and their individual suitability for plasma-based medical therapies is evaluated in a multitude of studies for a broad variety of prospective applications [8-10]. Safety aspects of plasma treatment of living tissue by a direct plasma source have been evaluated *in vivo* in an animal model for a treatment of 2 min. Histological evaluation of skin biopsies revealed no apoptosis or necrosis, no inflammation, no changes in collagen structure or any other kind of tissue damage [11]. The antimicrobial efficacy of plasma sources is well documented in the literature, yet the inactivation mechanisms are not fully clarified [12-17]. Actually, it is a major challenge to fit all puzzle pieces together, as studies in this field have a highly interdisciplinary character while microbiology as well as plasma technology are already complex branches for themselves. In publication practice, this leads to a high degree of permutation of the experimental settings by which it can be challenging to identify general causalities.

Technically, plasma sources comprise of a multitude of structural and functional elements whereby the main components that influence plasma parameters are the power supply and electrode design. Plasma sources applied in the research field of plasma medicine can technically be categorized into the so called direct plasmas and remote plasmas. Direct plasmas often incorporate the treated object into their electrical circuit thus facilitating the utilization of electric fields as well as short-lived species (charged particles, radicals) for therapeutic efficacy as the plasma is maintained proximate to the substrate. Recent patents referring to these type of plasma sources have been filed [18-22]. In contrast, remote plasmas (also termed *jets* or *plumes*) are characterized by a closed loop circuit and self-contained electrode system in which the plasma is generated in a defined cavity within at least two electrodes and then convected into an ambient environment by a controlled gas flow. The plasma volume outside of the electrode region is then called *effluent*. Consequently, the substrate does not have physical contact with the plasma itself but with the *effluent* in which particle composition and density can be different from the plasma parameters in the cavity. Based on this principle, a patent has been filed for a miniaturized, handheld device, that generates a cold plasma with a nozzle diameter of less than 0.7 mm at atmospheric pressure operating with noble gases or molecular gases at voltage frequencies of approximately 1 MHz [23]. In another patent, the plasma device comprises a cylindrical tubular shape [24]. The method of surface treatment on a dental restoration site by generating a cold atmospheric plasma inside the mouth of patients is claimed in [25]. An invention in the field of tissue resurfacing claims a disposable assembly for a gas plasma tissue treatment instrument [26]. It is worth noting that up till now, only the Rhytek Por-

trait® PSR source has been officially approved for the treatment of patients, yet this product is targeted on cosmetic applications [27].

The main aim of this work is to study growth inhibition of a variety of pathogenic microorganisms after low-temperature atmospheric pressure plasma treatment *in vitro*. The second aim is to evaluate, if the technical modification of the temporal characteristics of the high voltage pulse, which is essential for plasma generation, can enhance the efficacy of growth inhibition. Microorganisms were selected with an emphasis on pathogens related to or responsible for skin diseases like chronic wounds, eczemas or bacterial and fungal skin infections. At least one species of each microbial domain was considered. It is well known, that the inactivation efficiency of low-temperature plasma depends, among parameters like, working gas, gas temperature, species composition and density on both the applied dose and microorganism species [12, 13, 17]. The applied *in vitro* model, in which the microorganisms are exposed to the plasma while residing on agar growth medium, is both experimentally robust and well suited to simulate conditions for antiseptic treatment of human skin and therefore has been applied before [16].

## MATERIAL AND METHODS

All strains used in this study were laboratory strains delivered by the Leibniz Institute DSMZ-German Collection of Microorganisms and Cell cultures (Braunschweig, Germany). *Escherichia coli* (ATCC® 15223), oxacillin-sensitive *Staphylococcus aureus* (ATCC® 6538) and *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC® 9027) were cultivated in liquid casein-soya-pepton growth media (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) at a temperature of 37 °C for up to 20 h in an incubator. *Candida albicans* (ATCC® 10231) was cultivated in malt extract broth (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) at a temperature of 25 °C for 72 h. Bacteria resided in vegetative state and *Candida albicans* was existent as yeast-like cells. For both microorganisms, cells were counted using a hemocytometer and a DM 2500 M microscope (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany). A constant volume of 50 µL of each suspension was pipetted onto the surface of casein soy peptone (Merckoplate CASO) agar petri dishes (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) and evenly distributed in a circular area of 20 mm in diameter centered on the petri dish. The initial concentration of inoculated samples was  $4.2 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-2}$  for *Escherichia coli*,  $6.4 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-2}$  for *Staphylococcus aureus*,  $6.4 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-2}$  for *Pseudomonas aeruginosa* and  $2.1 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-2}$  for *Candida albicans*. *Microsporum canis* (DSM 10708) was cultivated in malt extract broth (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) for 14 days in Erlenmeyer flasks at a temperature of 30 °C. Two wet pieces of mycelium were extracted from the broth, drained for approximately one minute at normal conditions and weighed while residing in a sterile plastic tube. The mycelia were then comminuted applying a rotational dispersing device Micra D8 (Lamy Rheology, Champagne Au Mont d'Or, France). Afterwards, 0.9 % NaCl suspension was added up to an amount of 0.33 g mycelium per mL. A volume of 50 µL was then distributed on the agar surface according to petri dish preparation for bacteria and yeast suspensions and resulted in an initial concentration of  $5.2 \text{ mg cm}^{-2}$ .

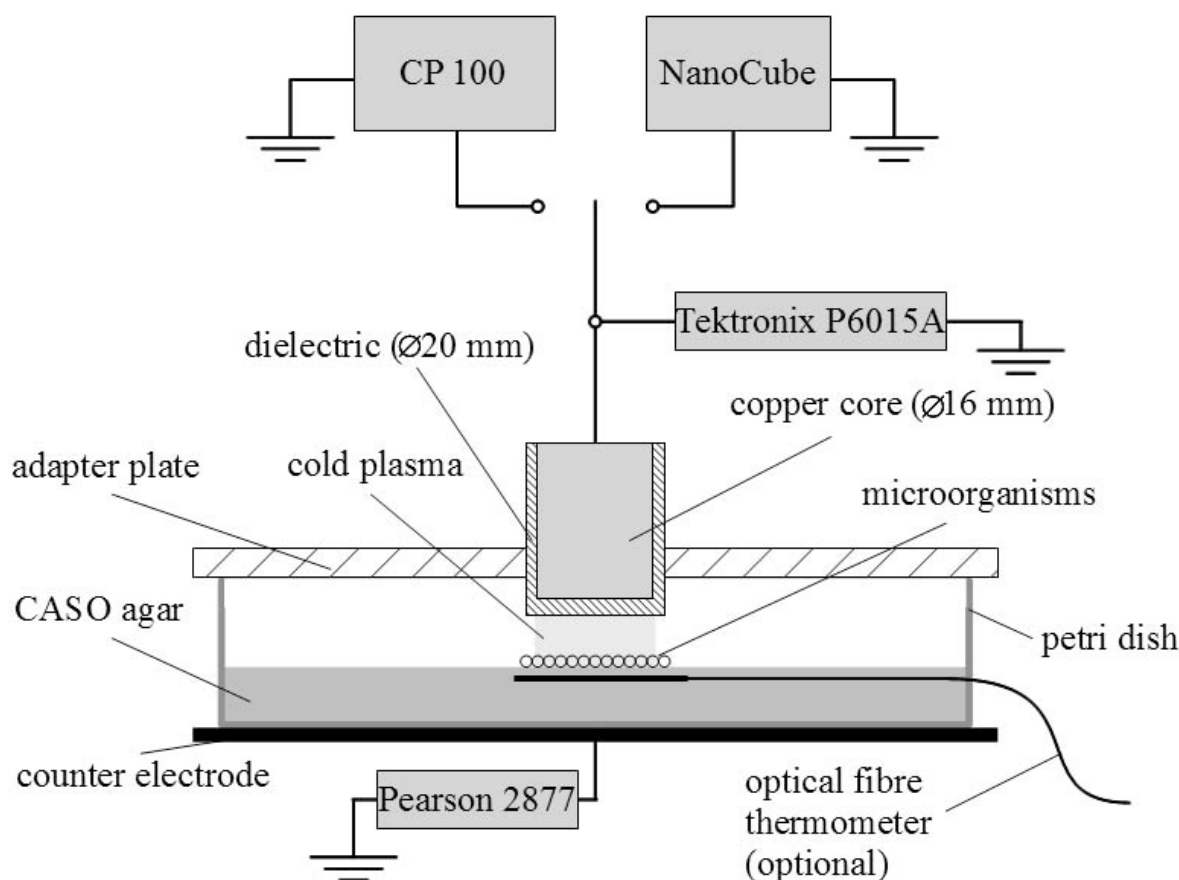


Prior to plasma treatment, all inoculated samples were dried at normal conditions for at least 20 min. This step was implemented to ensure seeping of the liquid suspension components into the agar matrix. Plasma dose was kept constant for each power supply by a constant treatment time of 1 min for bacteria and yeast and 5 min for *Microsporum canis*, respectively for the growth experiments. In another test series, in order to study cell viability, bacteria samples were scrapped from the agar surface before and after plasma treatment from 10 s to 60 s and resuspended in 5-10  $\mu\text{L}$  of LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup> bacterial viability kit (Invitrogen Corp., Eugene, USA) on object planes. This double staining assay has been successfully applied in studies on bacterial and yeast cell viability [28-30]. Due to the fact that LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup> is not suitable for filamentous fungi, for studies on *Microsporum canis* a volume of 10  $\mu\text{L}$  LTeasy dye (EasyProof Laborbedarf GmbH, Voerde, Germany) was applied. In contrast to LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup>, which separates cells with intact and damaged cell membranes, LTeasy does not only distinguish between intact and damaged cell membranes, but moreover indicates enzymatic activity inside of cells with green fluorescence, while the red dye, just like LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup>, is only attached to the DNA of cells with compromised membrane functionality [31]. Fluorescence images were captured by a microscope camera DFC 295 (Leica Microsystems GmbH,

Wetzlar, Germany) mounted on the DM 2500 M. If not stated otherwise, all fluorescence experiments were performed in triplicate in a laboratory of adequate biologic safety class (L2) at temperatures of  $22 \pm 2$  °C and relative humidities of  $47 \pm 6$  %.

The plasma electrode consists of a ceramic crucible ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) with an outer diameter of 20 mm and comprises a copper core. Embedded into a special adapter plate, the plasma electrode was centered in the petri dish at a gas gap of 1.5 mm between the agar surface and the end plane of the ceramic. For the treatment, petri dishes were placed on an electrically grounded counter electrode. A schematic of the setup is depicted in Fig. (1).

While the plasma electrode and its adjustment relative to the petri dishes was fixed during the study, the setup was operated with two different power supplies at constant settings. The electrical parameters were recorded applying a high voltage probe Tektronix P6015A (Tektronix, Inc., Beaverton, USA), current monitor Pearson 2877 (Pearson Electronics Inc., Palo Alto, USA) and a Yokogawa DL1740EL digital oscilloscope (Yokogawa Deutschland GmbH, Herrsching, Germany). The CP 100 power supply (CINOGY GmbH, Duderstadt, Germany) generates high voltage pulses at damped sinusoidal waveform with a peak voltage of  $\hat{u} = 10.3$  kV (duration of first half cycle approx. 2



**Fig. (1).** Schematic of the experimental setup. Microorganisms on growth medium were exposed to low-temperature plasma generated by an electrical gas discharge in atmospheric pressure air.

$\mu\text{s}$ ) and a pulse train width of 0.07 ms (until 10 % of peak value). Pulse repetition rate was kept constant at  $f = 255 \text{ Hz}$ . On the other hand, the NanoCube (University of Applied Sciences and Arts, Goettingen, Germany) generates considerably shorter voltage pulses at comparable peak values of the voltage. The maximum voltage of  $\hat{u} = 14.1 \text{ kV}$  is achieved within the first half cycle (duration approx. 30 ns), while the pulse decreases below 10 % of the peak value after 140 ns. The NanoCube was also operated at a repetition rate of  $f = 255 \text{ Hz}$ . Fig. (2) shows the temporal evolution of each pulse. Methodically, instantaneous voltage-current-products were integrated over the pulse train width to achieve the total energy stored in one pulse. Multiplying this energy with the pulse repetition rate results in total electric input power of the plasma electrode. This method has been successfully validated against calorimetric measurements [32]. Mean values for total electric input power were calculated to  $435 \pm 22 \text{ mW}$  for operation with the CP 100 power supply and  $426 \pm 46 \text{ mW}$  when the setup was operated with the NanoCube. Consequently, plasma dosage for operation with both power supplies is comparable for constant treatment times.

Photographs of both gas discharges were recorded by a EOS 300 D digital camera (Canon Germany GmbH, Krefeld, Germany) a macro objective lens with f-number 2.8 and a constant shutter speed of 30 s. Photographs of inoculated growth media were taken directly after the incubation was completed. The temperature was recorded by an optical fibre

thermometer (FISO Technologies Inc., Quebec, Canada) with the optical fibre embedded 1-1.5 mm beneath the agar surface during plasma treatment.

## RESULTS & DISCUSSION

One of the most distinctive differences between the gas discharges in Fig. (3) is the visual morphology of the plasma when comparing photographs of discharges produced by both power supplies. While for the CP 100 power supply the plasma propagates non-homogeneously with distinct stationary *microdischarges* and areas of little to virtually no gas breakdown, the discharge produced by the NanoCube appears more homogeneous with evenly distributed *microdischarges* across the whole electrode area. The plasma zone can be approximated by its light emission which can be observed within a diameter of 18 mm for operation with both power supplies.

As demonstrated in Fig. (4), the plasma electrode operated with both power supplies has only minor thermodynamic impact on the agar substrate as the temperature of the growth medium increases about less than  $2^\circ\text{C}$  during plasma treatment for 3 min.

The results of the growth experiments were interpreted according to visual evaluation of agar plates and photos. Due to the clear all or nothing result (germs or none on the plate), a blinding of the person who evaluated was not necessary. At least three different persons were involved in the evaluation

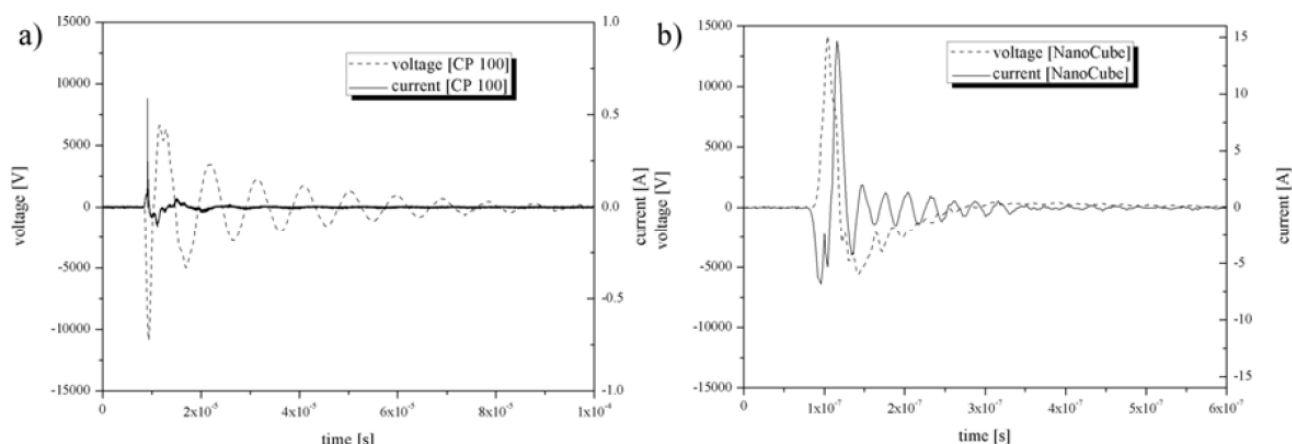


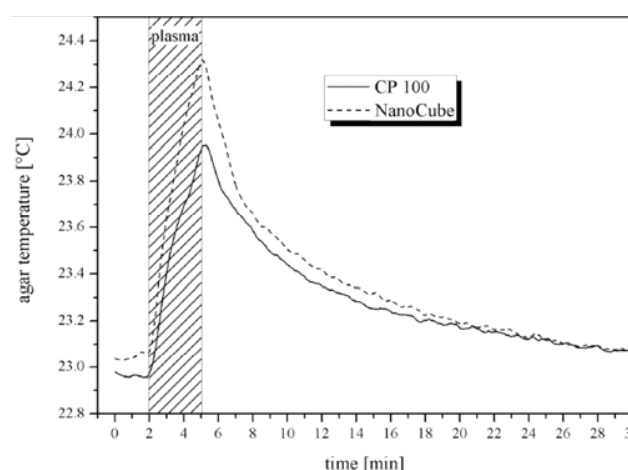
Fig. (2). (a,b) Current-voltage-characteristics of (a) CP 100 power supply and (b) NanoCube.



Fig. (3). (a,b) Photographs of the plasma generated by power supply (a) CP100 and (b) NanoCube operating the identical plasma electrode. Agar plate, gas gap and camera settings were fixed for both photographs.

of the results independently from each other. The results in Fig. (5) - Fig. (9) clearly demonstrate the growth inhibition induced by low-temperature plasma for operation with both, the CP 100 and the NanoCube power supply. Obviously, the constant plasma doses applied during the growth studies were not sufficient to inhibit proliferation of all cells of every microbial species. Yet, referring to Fig. (5) - Fig. (8), the plasma efficacy correlates with initial cell density since samples with relatively low initial cell density (Fig. (6) and Fig. (8)) reveal the fewest surviving microorganisms. In this context, the effect of cell stacking resulting in a physical shielding of viable cells against plasma constituents is often suggested in the literature [13, 33, 34]. However, all dermatologically relevant pathogens in this study show a distinct susceptibility to the plasma treatment.

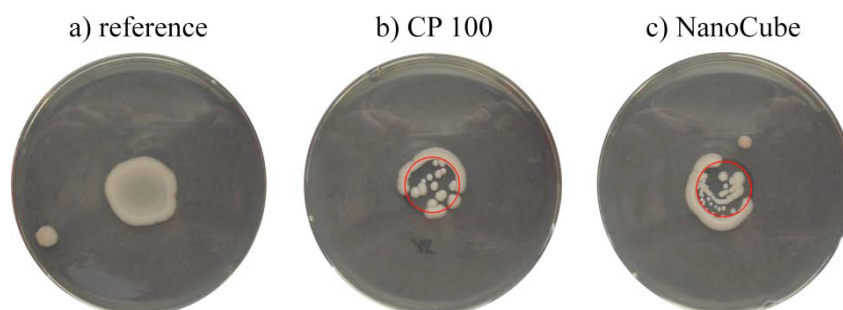
Comparing the results in Fig. (5b) and Fig. (5c), for *Escherichia coli* no major impact of the power supply on efficacy within a plasma treatment of 1 min can be stated. In contrast, for *Staphylococcus aureus* Fig. (6), *Pseudomonas aeruginosa* Fig. (7), *Candida albicans* Fig. (8) and *Microsporium canis* Fig. (9), the plasma electrode shows the tendency of superior efficacy when operated by the NanoCube power supply which is in agreement with the results for *Escherichia coli* in a related work [35]. In view of microorganism-specific characteristics, it is interesting to note, that growth of yeast-like *Candida albicans* can be inhibited within a 1 min treatment by a degree that is comparable to gram positive *Staphylococcus aureus*. In our study, cell densities of both microorganisms varied only by a factor



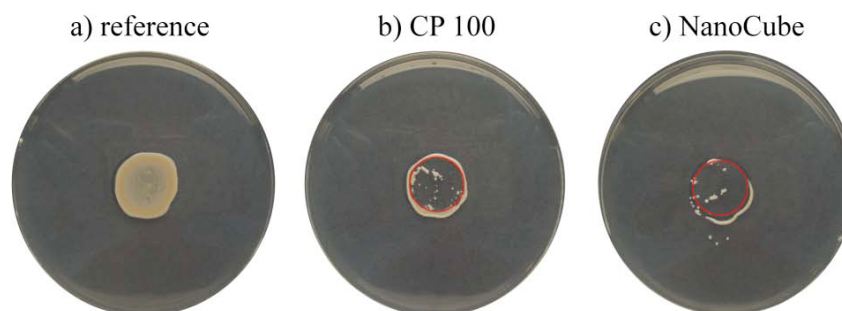
**Fig. (4).** Temporal characteristics of agar temperature during plasma treatment for 3 min operated by CP 100 (continuous line) and NanoCube (dashed line).

of three in favor of the bacteria. Furthermore, it is important to note that, within our experimental settings, the highest plasma dose was required to achieve growth inhibition of *Microsporium canis*.

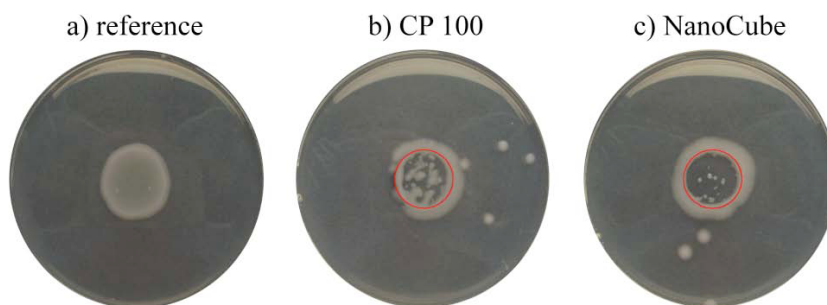
Mechanisms of low-temperature plasma inactivation are not in the focus of this study. Yet, it is interesting to observe that Fig. (7b) and Fig. (7c) exhibit a sharp geometrical border of the growth inhibition zone. This indicates, that the presence



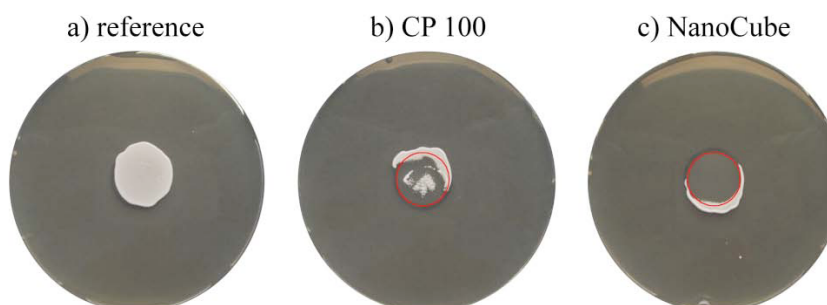
**Fig. (5).** (a,b,c) Growth of *Escherichia coli* (ATCC 15223) at an initial cell density of  $4.2 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-2}$  without plasma exposure (a) and after plasma treatment for 1 min operated with the CP 100 (b) and the NanoCube (c). Plasma treated area is encircled. Specimens were incubated for 24 h at a temperature of 37 °C.



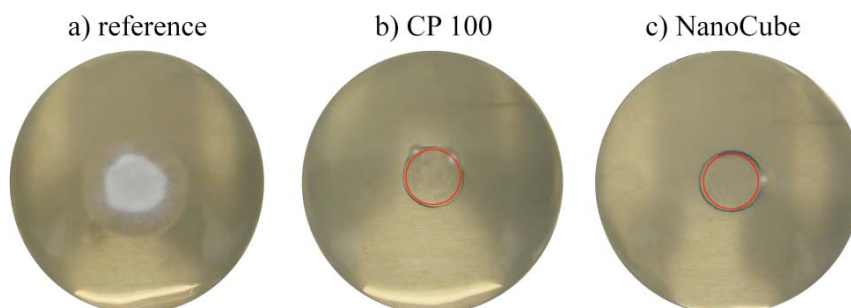
**Fig. (6).** (a,b,c) Growth of *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) at an initial cell density of  $6.4 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-2}$  without plasma exposure (a) and after plasma treatment for 1 minute operated with the CP 100 (b) and the NanoCube (c). Plasma treated area is encircled. Specimens were incubated for 19 h at a temperature of 37 °C.



**Fig. (7).** (a,b,c) Growth of *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) at an initial cell density of  $6.4 \cdot 10^6 \text{ cm}^{-2}$  without plasma exposure (a) and after plasma treatment for 1 min operated with the CP 100 (b) and the NanoCube (c). Plasma treated area is encircled. Specimens were incubated for 18 h at a temperature of 37 °C.



**Fig. (8).** (a,b,c) Growth of *Candida albicans* (ATCC 10231) at an initial cell density of  $2.1 \cdot 10^5 \text{ cm}^{-2}$  without plasma exposure (a) and after plasma treatment for 1 minute operated with the CP 100 (b) and the NanoCube (c). Plasma treated area is encircled. Specimens were incubated for 41 h at a temperature of 25 °C.



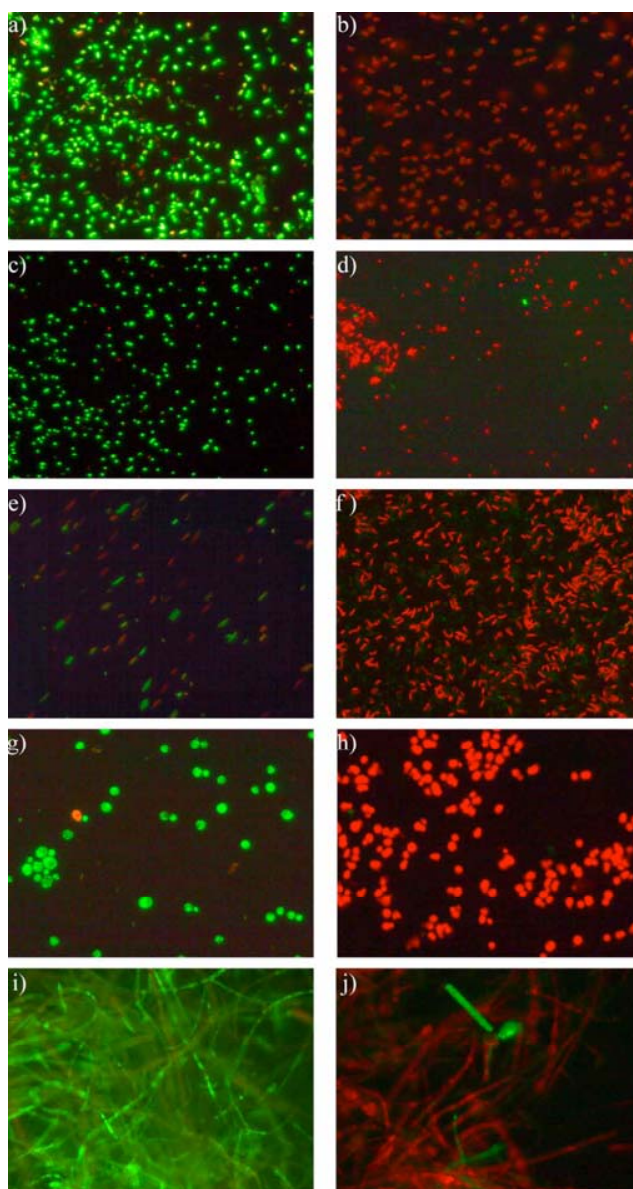
**Fig. (9).** (a,b,c) Growth of *Microsporium canis* (DSM 10708) at an initial cell density of  $5.2 \text{ mg cm}^{-2}$  without plasma exposure (a) and after plasma treatment for 5 min operated with the CP 100 (b) and the NanoCube (c). Plasma treated area is encircled. Specimens were incubated for 84 h at a temperature of 30 °C.

of an electric field and consequently the highest density of short-lived species such as charged particles and radicals in proximity to the microorganisms may play an important role. In fact, models for the interaction of charged particles and associated electric fields with cells have been suggested and studies on chemical inactivation pathways and the role of radicals and oxidizing agents in damaging the cell membranes are numerous [36–40]. However, until now, the complete mechanisms of plasma impact on microorganisms are not well understood and are thus subject of current research.

The effect of low-temperature plasma on the viability of cells was visualized via fluorescence microscopy in Fig. (10). Samples of *Escherichia Coli*, *Staphylococcus aureus*,

*Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* were exposed to the plasma electrode operated with the NanoCube power supply for 10 s to 60 s. With the staining method applied, basically two categories of cell condition can be classified - viable cells indicated by light green fluorescence (SYTO 9) and cells with distinct membrane damage and red fluorescence (propidium iodide). When comparing control samples of *Escherichia coli* in Fig. (10a) with samples treated for 10 s in Fig. (10b), it becomes apparent, that the plasma exposure has a distinct impact on cell viability. Furthermore, most of the plasma treated bacteria exhibit a curved shape indicating that the plasma dose applied in this study affects cell morphology of this species. In fact, gross





**Fig. (10).** (a-j) Fluorescence images of microorganism control (left) and after exposure to low-temperature plasma electrode operated with NanoCube (right). **a)** *Escherichia coli* control, **b)** *Escherichia coli* after 10 s, **c)** *Staphylococcus aureus* control, **d)** *Staphylococcus aureus* after 30s, **e)** *Pseudomonas aeruginosa* control, **f)** *Pseudomonas aeruginosa* after 30 s, **g)** *Candida albicans* control, **h)** *Candida albicans* after 60 s, **i)** *Microsporium canis* control, **j)** *Microsporium canis* after 5 min.

morphological damage on gram-negative *Escherichia coli* after exposure to a direct plasma source has been confirmed in other studies applying scanning electron microscopy [41, 42]. Fig. (10c) and (10d) facilitate the comparison of *Staphylococcus aureus* samples before and after plasma treatment for 30 s, respectively. The majority of the gram-positive bacteria cells appear non-viable indicated by red fluorescence. Even though the control sample for *Pseudomonas aeruginosa* in Fig. (10e) exhibits a certain amount of non-viable cells, the viability of the cells in Fig. (10f) is distinctively reduced after exposure to the low-temperature plasma for 30 s. While

the control sample of *Candida albicans* in Fig. (10g) depicts viability and defined round shape of the yeast-like cells, the plasma exposure for 60 s has predominantly led to the killing of the cells. Moreover, the shape of most cells had turned into a more oval form which might be interpreted as leakage of cytoplasm from the cell interior. Yet, further studies on cell morphology are necessary to confirm this hypothesis. Fig. (10i) shows a control sample of *Microsporium canis* stained with LTeasy dye. Inside the hyphae, an accumulation of green fluorescent dye can be noticed, due to enzymatic activity of the fungal cells. Fig. (10j) shows a piece of fungal mycelium after the same conditioning followed by an additional low-temperature plasma treatment for 5 min. Only a few single cells still show enzymatic activity while most fluoresce red. This indicates, that after the low-temperature plasma treatment, the cell membranes became damaged. Compared to the treatment times of bacteria or yeast cells, it became obvious, that for filamentous fungi longer low-temperature plasma treatment is necessary to gain a noticeable effect on cell viability. According to previous findings, the susceptibility of bacteria against plasma is dependent on cell wall structure. The authors concluded, that due to the thinner peptidoglycan structure, gram-negative species appear more vulnerable to plasma particles than gram-positive bacteria [42]. The cell wall structure of hyphae, which are formed from several layers of polymers (e.g. chitin,  $\beta$ -1,3-glucan and mannoproteins) and thereby possess a more rigid morphology than gram-positive bacteria, might explain the higher plasma doses necessary to induce lethal effects on the fungi cells.

In summary, the efficacy of low-temperature plasma for reducing the viability of microorganisms related to skin diseases deriving from three different kingdoms has been demonstrated.

## CURRENT & FUTURE DEVELOPMENTS

Based on the multiplicity of eligible antimicrobial agents like energetic charged particles, electric field, ROS and RNS and a consequential rather physico-chemically dominated inactivation pathway in contrast to bio-chemical pathways of antibiotics, there is good reason to expect no major differences in efficacy of low-temperature plasma against bacterial colonies possessing antibiotic resistances. Against the background of increasing antibiotic resistances, it is the physico-chemical approach that renders the low-temperature plasma technology interestingly for prospective antiseptic applications. The potential of this technology for therapeutic applications is evaluated in a steadily increasing number of studies and has led to the formation of the International Society of Plasma Medicine in 2009. So far, the majority of publications still present *in vitro* results as many authors have a rather institutional (physics, biology) than a clinical background. Yet, the number of physicians involved in publications is rising, giving hope to an increasing number of significant *in vivo* results within the next years.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the European Regional Development Funds (EFRE) and the Workgroup Innovative Projects of Lower Saxony (AGIP) in the frame of the Lower Saxony Innovation Network for Plasma Technology (NIP),

funding code W2-80029388. Furthermore, we would like to thankfully acknowledge the support from Bernd Meyer (Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH) for the noble and dedicated allocation of the fluorescence microscope system and Dr.-Ing. Frank Nitzsche (EasyProof Laborbedarf GmbH) for providing the fluorescence assay LTeasy.

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interests.

## REFERENCES

- Ramakrishnan S, Rogozinski MW. Properties of electric arc plasma for metal cutting. *J Phys D Appl Phys* 1997; 30: 636-44.
- Semenov S, Cetegen B. Spectroscopic temperature measurements in direct current arc plasma jets used in thermal spray processing of materials. *J Therm Spray Techn* 2001; 10: 326-36.
- von Siemens W. Ozone production in an atmospheric-pressure dielectric barrier discharge. *Pogg Ann* 1857; 102: 66-122.
- Kossyi IA, Kostinsky AY, Matveyev AA, Silakov VP. Kinetic scheme of the non-equilibrium discharge in nitrogen-oxygen mixtures. *Plasma Sources Sci T* 1992; 1: 207-20.
- Dorai R, Kushner MJ. A model for plasma modification of polypropylene using atmospheric pressure discharges. *J Phys D Appl Phys* 2003; 36: 666-85.
- Kogelschatz U. Fundamentals and applications of dielectric barrier discharges. Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Symposium on High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry (HAKONE). Greifswald, Germany, September 10-13, 2000.
- Kuchenbecker M, Bibinov N, Kaemling A, Wandke D, Awakowicz P, Vioel W. Characterization of DBD plasma source for biomedical applications. *J Phys D Appl Phys* 2009; 42: 045212(10pp).
- Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A. Applied plasma medicine. *Plasma Processes Polym* 2008; 5: 503-33.
- Kong MG, Kroesen G, Morfill G, Nosenko T, Shimizu T van Dijk J, et al. Plasma medicine: an introductory review. *New J Phys* 2009; 11: 115012(35pp).
- Weltmann KD, Kindel E, von Woedtke T, Haehnel M, Stieber M, Brandenburg R. Atmospheric-pressure plasma sources: Prospective tools for plasma medicine. *Pure Appl Chem* 2010; 82: 1223-37.
- Rajasekaran P, Oplaender C, Hoffmeister D, Bibinov N, Suschek C, Wandke D, et al. Characterization of dielectric barrier discharge (DBD) on mouse and histological evaluation of the plasma-treated tissue. *Plasma Processes Polym* 2011; 8: 246-55.
- Montie TC, Kelly-Wintenberg K, Roth JR. An overview of research using the one atmosphere uniform glowdischarge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials. *Trans Plasma Sci* 2000; 21: 41-50.
- Laroussi M. Low temperature plasma-based sterilization: Overview and state-of-the-art. *Plasma Processes Polym* 2005; 2: 391-400.
- Perni S, Shama G, Hobman JL, Lund PA, Kershaw CJ, Hidalgo-Arroyo GA, et al. Probing bactericidal mechanisms induced by cold atmospheric plasmas with *Escherichia coli* mutants. *Appl Phys Lett* 2007; 90: 073902(3pp).
- Pompl R, Jamitzky F, Shimizu T, Steffes B, Bunk W, Schmidt HU, et al. The effect of low-temperature plasma on bacteria as observed by repeated AFM imaging. *New J Phys* 2009; 11: 115023(11pp).
- Daeschlein G, von Woedtke T, Kindel E, Brandenburg R, Weltmann KD, Juenger M. Antibacterial activity of an atmospheric pressure plasma jet against relevant wound pathogens *in vitro* on a simulated wound environment. *Plasma Processes Polym* 2010; 7: 224-30.
- Ehlbeck J, Schnabel U, Polak M, Winter J, von Woedtke T, Brandenburg R, et al. Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination. *J Phys D Appl Phys* 2011; 44: 013002(18pp).
- Vioel W. Treatment of biological material containing living cells using a plasma generated by a gas discharge. WO2004105810 (2004).
- Vioel W., Mertens N., Helmke A. Method and device for the combined treatment of a surface with plasma and with electromagnetic radiation. WO2008141809 (2008).
- Wandke, D., Kaemling, A., Busse, B., Kaemling, C. Method for treating biological material comprising living cells. WO2010025904 (2009).
- Gutsol, A.F., Fridman, A., Friedman, G., Fridman, G., Balasubramanian, M. Methods for non-thermal application of gas plasma to living tissue. US20100145253 (2006).
- Stieber, M., Weltmann, K.-D., Horn, S., Brandenburg, R., von Woedtke, T. Device for the planar treatment of areas of human or animal skin or mucous membrane surfaces by means of a cold atmospheric pressure plasma. WO2011023478 (2010).
- Kindel, E., Lembke, N., Stieber, M., Titze, R., Weltmann, K.-D., Hellwig, L. Device for generating a non-thermal atmospheric pressure plasma. WO2011015538 (2010).
- Koo, I.-G., Scott, D. A., Moore, C. A., Collins, G. J. Plasma device for wide area surface treatment of tissue. WO2010138105 (2009).
- Yu, Q., Li, H., Chen, M. Atmospheric non-thermal gas plasma method for dental surface treatment. US20100273129 (2010).
- Goble, C., Charles, O., Penny, K. Gas plasma tissue resurfacing instrument. WO2005084569 (2005).
- Kilmer S, Semchyshyn N, Shah G, Fitzpatrick R. A pilot study on the use of a plasma skin regeneration device (Portrait® PSR3) in full facial rejuvenation procedures. *Laser Med Sci* 2007; 22: 101-9.
- Jin Y, Zhang T, Samaranayake Y, Fang H, Yip H, Samaranayake L. The use of new probes and stains for improved assessment of cell viability and extracellular polymeric substances in *Candida albicans* biofilms. *Mycopathologia* 2005; 159: 353-60.
- O'Neill AJ, Miller K, Oliva B, Chopra I. Comparison of assays for detection of agents causing membrane damage in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemoth* 2004; 54: 1127-9.
- Webb JS, Thompson LS, James S, Charlton T, Tolker-Nielsen T, Koch B, Givskov M, Kjelleberg S. Cell Death in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development. *J Bacteriol* 2003; 185: 4585-92.
- Weiss, T., Stumpe, S., Siepmann, F., Thuenchen, A., Grawe, F., Katerkamp, A., Heinzel, M., Breves, R., Weide, M. Method and device for identifying germs, WO2004055203 (2004).
- Ayan H. Uniform dielectric barrier discharge with nanosecond pulse excitation for biomedical applications. PhD Thesis, Drexel University, Philadelphia, USA, July 2009.
- Deng XT, Shi JJ, Shama G, Kong MG. Effects of microbial loading and sporulation temperature on atmospheric plasma inactivation of *Bacillus subtilis* spores. *Appl Phys Lett* 2005; 87: 153901(2pp).
- Yu H, Perni S, Shi J, Wang D, Kong M, Shama G. Effects of cell surface loading and phase of growth in cold atmospheric gas plasma inactivation of *Escherichia coli* K12. *J Appl Microbiol* 2006; 101: 1323-30.
- Ayan H, Staack D, Fridman G, Gutsol A, Mukhin Y, Starikovskii A, et al. Application of nanosecond-pulsed dielectric barrier discharge for biomedical treatment of topographically non-uniform surfaces. *J Phys D Appl Phys* 2009; 42: 125202(5pp).
- Laroussi M, Mendis DA, Rosenberg M. Plasma interaction with microbes. *New J Phys* 2003; 5: 41.1-41.10.
- Stoffels E, Sakiyama Y, Graves DB. Cold Atmospheric Plasma: Charged species and their interactions with cells and tissues. *Trans Plasma Sci* 2008; 36: 1441-57.
- Helmke A, Hoffmeister D, Mertens N, Emmert S, Schuette J, Vioel W. The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air. *New J Phys* 2009; 11: 115025(10pp).
- Oehmigen K, Haehnel M, Brandenburg R, Wilke C, Weltmann KD, von Woedtke T. The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids. *Plasma Processes Polym* 2010; 7: 250-7.
- Helmke A, Hoffmeister D, Berge F, Emmert S, Laspe P, Vioel W, et al. Physical and microbiological characterisation of *Staphylococcus epidermidis* inactivation by dielectric barrier discharge plasma. *Plasma Processes Polym* 2011; 8: 278-86.
- Laroussi M, Richardson JP, Dobbs FC. Effects of nonequilibrium atmospheric pressure plasmas on the heterotrophic pathways of bacteria and on their cell morphology. *Appl Phys Lett* 2002; 81: 772-4.
- Sun Y, Qiu Y, Nie A, Wang X. Experimental research on inactivation of bacteria by using dielectric barrier discharge. *Trans Plasma Sci* 2007; 35: 1496-1500.

## 5.4 Sicherheitsrelevante Prozessparameter einer Volumen-DBE für den Einsatz in dermatologischen Therapien

In der modernen plasmamedizinischen Forschung werden sowohl direkte als auch indirekte Plasmaquellen zunächst auf Basis von Erfahrungswerten mit mutmaßlich gewebeverträglichen Betriebsparameterfenstern konzipiert und in technische Funktionsmuster umgesetzt. In der Folge werden in physikalisch-technischen sowie medizinisch-biologischen Studien die technologischen Wirk- und Risikopotentiale erforscht. Die Rückkopplung der dabei gewonnenen Erkenntnisse in die technische Weiterentwicklung und Geräteparametrierung bildet ein wesentliches Element der Forschungsstrategie zur Entwicklung sicherer und wirksamer Plasmaverfahren.

Während bei indirekten Plasmaquellen die Prozessparameter der Geräte häufig unabhängig von der spezifischen Anwendung charakterisiert werden können, sind direkte Plasmaquellen wie die Volumen-DBE bereits für die Erzeugung des Plasmas auf eine anwendungsspezifische Gegenelektrode angewiesen. Damit sind auch die Prozessparameter in gewissen Grenzen abhängig von der jeweiligen Anwendung. Die Anwendung der Volumen-DBE an der Haut von Patienten gilt jedoch als klinische Prüfung, für deren Durchführung regulatorisch ein positives Ethikvotum vorliegen muss. Eine Ethikkommission entscheidet dazu auf Basis einer Risiko-Nutzen-Analyse über die Durchführbarkeit der jeweiligen Maßnahme [170].

Da die Plasmaanwendung auf der menschlichen Haut ein innovativer Ansatz ist, erfolgt diese Risiko-Nutzen-Analyse im Einzelfall geräte- bzw. konzeptspezifisch. Den regulatorischen Abläufen entsprechend können dazu jedoch noch keine in vivo-Daten zum Einsatz einer Volumen-DBE am Menschen vorliegen und herangezogen werden. Somit muss die Risiko-Nutzen-Analyse ausschließlich anhand von Basisdaten erfolgen, die bei dem Betrieb der Plasmaquelle an technischen Oberflächen, in vitro oder ex vivo generiert wurden. Erst wenn sich im Rahmen dieser Untersuchungen Betriebsparametersätze für eine möglichst gefahrungsarme Anwendung am Patienten bestimmen lassen, können die bis dato identifizierten Wirkpotentiale in vivo in klinischen Humanstudien erforscht werden.

Zur Generierung solcher Basisdaten wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Studie konzipiert, in deren Vorbereitung zunächst sicherheitsrelevante Prozessparameter bei der Anwendung einer Volumen-DBE an Haut definiert wurden. Durch die Auswahl, Entwicklung und Anwendung geeigneter quantitativer

Methodiken wurden diese Prozessparameter beim Betrieb der Volumen-DBE gegen eine technische Gegenelektrode über einen breiten Betriebsparameterbereich charakterisiert. Anhand der Ergebnisse kann das Risikopotential entsprechender Plasmaquellen im Kontext gesetzlicher Grenzwerte, Erkenntnisse aus früheren Studien oder Materialeigenschaften evaluiert werden, um mögliche dosisbegrenzende Prozessparameter für den klinischen Einsatz am Menschen zu identifizieren. Darüber hinaus können innerhalb des breiten Betriebsparameterspektrums Parametersätze für eine möglichst gefährdungsarme Anwendung am Patienten ermittelt werden. Erstmals kamen bei dieser Studie Macor-Keramikelektroden mit einem Durchmesser von 10 mm in drei unterschiedlichen Materialstärken als Dielektrikum zum Einsatz, um den Einfluss der Keramikstärke auf die Prozessparameter zu untersuchen. Diese Elektroden wurden mit einer Energieversorgungseinheit bei 3 verschiedenen elektrischen Leistungsstufen in 4 verschiedenen Abständen gegen metallische Gegenelektroden betrieben. Die Zielparameter der Studie umfassen die elektrische Leistung, die maximal auftretende elektrische Feldstärke in den Keramikelektroden, die spektrale Verteilung der elektromagnetischen Strahlung ( $200\text{ nm} < \lambda < 1100\text{ nm}$ ) sowie die auftretenden Radianzen, die Gastemperatur der Neutralteilchen, die mittlere reduzierte elektrische Feldstärke in der Gasentladung sowie die mittlere Ozonkonzentration unmittelbar im Plasmavolumen.

Für plasmamedizinische Quellen wurde mit einem Fokus auf Plasma-Jets von Weltmann *et al.* ein sicherheits- und wirkorientiertes Charakterisierungskonzept vorgeschlagen, dessen Methodiken jedoch nur zum Teil auf direkte Plasmaquellen übertragbar sind und darüber hinaus wichtige Prozessparameter der Volumen-DBE in Luft (u.a. elektrische Feldstärke, Ozonkonzentration) unberücksichtigt lassen [118].

Unter Verwendung eines frühen Funktionsmusters zur Energieversorgung sowie einer  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Keramik-Elektrode mit einem Durchmesser von 10 mm und einer Macor-Keramik-Elektrode mit einem Durchmesser von 20 mm mit jeweils konstanter Keramikstärke wurde im Jahr 2011 eine Arbeit zu Sicherheitsaspekten für die Anwendung der Volumen-DBE an der menschlichen Haut publiziert [171]. Darin wurden die elektrischen Leistungen bestimmt, Gastemperaturen gemessen sowie eine Bewertung der Plasma-UV-Emission durchgeführt. Die Methodik zur messtechnischen Erfassung und Bewertung der UV-Emission, die auch im Rahmen dieser Arbeit Anwendung findet, wurde in Kooperation mit dem Autor in [171] speziell für die Volumen-DBE entwickelt.

Durch Kuchenbecker *et al.* wurden die Parameter einer für biomedizinische Anwendungen konzipierten Volumen-DBE in Luft unter Verwendung einer



$\text{Al}_2\text{O}_3$ -Elektrode mit einem Durchmesser von 10 mm und einer festen Materialstärke der Keramik bei dem Betrieb gegen eine flächige Aluminium-Gegenelektrode charakterisiert. Die Zielparameter umfassten die elektrische Leistung, die transportierte Ladung in den Mikroentladungen, die Zündspannung, die Gastemperatur der Neutralteilchen sowie deren raum-zeitliche Verteilung, die Aufteilung der Gesamtenergie in chemische und thermische Prozesse, die Elektronendichte, die mittlere reduzierte elektrische Feldstärke sowie daraus abgeleitet die Ratenkonstanten für Elektronenstoßprozesse im Plasma [172]. Für die Erzeugung und Charakterisierung eines einzelnen Filamentes wurde durch Rajasekaran *et al.* dieselbe Plasmaquelle mit einer Aluminiumspitze als Gegenelektrode betrieben. Anhand von Randbedingungen aus emissionsspektroskopischen Messungen wurden die Flüsse von Stickstoffmonoxid (NO), Ozon ( $\text{O}_3$ ) sowie der Photonen auf die behandelte Oberfläche unter Verwendung eines fluiddynamischen numerischen Modells berechnet [173]. Durch Verwendung verschiedener technischer Gegenelektroden konnten filamentierte und homogene Betriebsmodi mit dieser Plasmaquelle realisiert werden, deren Charakteristika mit derselben Methodik zur Bestimmung der Teilchenflüsse analysiert wurde [174]. Schließlich wurde diese Methodik bei dem Betrieb der Plasmaquelle auf einer Maus im Rahmen eines Tierversuchs angewendet [175].

Die Untersuchungen zu Risikofaktoren zeigen innerhalb der Parametergrenzen der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studie, dass eine Gefährdung des Patienten durch einen elektrischen Durchschlag des Keramikmaterials ausgeschlossen werden kann. Die im Keramikmaterial auftretenden elektrischen Feldstärken betragen weniger als die Hälfte der Durchschlagfestigkeit des Materials, wodurch die Ausbildung einer thermisch wirkenden Funken- oder Bogenentladung und in deren Folge eine thermische Gewebeschädigung auszuschließen ist. Unter Einbeziehung der Strahlungsintensität sowie deren spektraler Verteilung wäre mit allen Parametersätzen eine Behandlung bis zu 7 Stunden täglich möglich, ohne den Grenzwert für strahlungsinduzierte Langzeitschäden an der Haut zu überschreiten. Während die Gastemperaturen kurzfristig Maximalwerte bis zu 450 K erreichen können, beträgt die zur Thermalisierung mit der Haut heranzuziehende mittlere Gastemperatur zwischen 300 K und 310 K und befindet sich damit im gewebeverträglichen Bereich Nahe der Raumtemperatur. Die reduzierte elektrische Feldstärke der Gasentladung sinkt kontinuierlich von Maximalwerten zwischen 600-700 Td bei 0,5 mm Elektrodenabstand bis zu Werten von 400-500 Td bei 2,0 mm Elektrodenabstand. Die Ozonkonzentrationen im Plasmavolumen stellten sich als Funktion der zugeführten elektrischen Leistung sowie des Abstands zwischen Keramik- und Gegenelektrode bei Werten von einigen

100 ppm bis zu maximal 1140 ppm ein. Während diese Konzentrationen bei therapeutischen Anwendungen nicht zu direkten Schädigungen der Haut führen, ist angesichts einer Ozonkonzentration von 0,1 ppm, die zum Schutz der menschlichen Atmungsorgane als 8-Stunden-Grenzwert für die eingeatmete Luft definiert wurde, sowohl für den Anwender als auch für den Patienten von einem Risikopotential für den Atemtrakt auszugehen. Anhand des geringen Plasmavolumens und Behandlungszeiten unterhalb von einer Minute wurde abgeschätzt, dass sich durch Diffusionseffekte die Ozonkonzentration bereits in einigen cm Abstand zum Plasmavolumen unterhalb des Grenzwerts verringert haben könnte. Durch die Einhaltung eines Mindestabstands zwischen Atmungsorganen und Plasmavolumen könnte dieses Risikopotential minimiert und gefahrungsarme Anwendung am Menschen sichergestellt werden.

Aufgrund der relativ umfangreichen experimentellen Methodenauswahl kann diese Studie für ein Charakterisierungskonzept bei der Bewertung von Sicherheitsaspekten für den Einsatz der Volumen-DBE in der Dermatologie herangezogen werden.

Die beschriebenen Untersuchungsreihen wurden in dem nachfolgenden Artikel publiziert:

Quelle:

Andreas Helmke, Dirk Wandke, Mostafa Mahmoodzada, Klaus-Dieter Weltmann, Wolfgang Viöl:

*Impact of electrode design, supply voltage and interelectrode distance on safety aspects and characteristics of a medical DBD plasma source.*

Contributions to Plasma Physics. 2013. Vol. 53. 623-638.

Copyright Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Reproduced with permission.

# Impact of Electrode Design, Supply Voltage and Interelectrode Distance on Safety Aspects and Characteristics of a Medical DBD Plasma Source

A. Helmke<sup>1\*</sup>, D. Wandke<sup>2</sup>, M. Mahmoodzada<sup>1</sup>, K.-D. Weltmann<sup>3</sup>, and W. Viöl<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> HAWK University of Applied Sciences and Arts, Faculty of Sciences and Technology, Von-Ossietzky-Str. 99, 37085 Göttingen, Germany

<sup>2</sup> CINOGY GmbH, Max-Naeder-Str. 15, 37114 Duderstadt, Germany

<sup>3</sup> Leibniz Institute for Plasma Science and Technology e.V. (INP), Felix-Hausdorff-Str. 2, 17489 Greifswald, Germany

<sup>4</sup> Application Center for Plasma and Photonic (APP), Fraunhofer Institute for Surface Engineering and Thin Films IST, Von-Ossietzky-Str. 99, 37085 Göttingen, Germany

Received 27 December 2012, revised 21 June 2013, accepted 25 July 2013

Published online 08 November 2013

**Key words** Dielectric barrier discharge, dielectric strength, plasma medicine, ozone, UV exposure.

In the frame of plasma source development for dermatological applications in the field of plasma medicine, operational safety of the devices is of superior priority. For sources based on the concept of dielectric barrier discharges (DBD), electric potentials with amplitudes in the range of some kV are arranged in close proximity to the skin of patients, wherein dielectric strength of the electrodes and leakage currents are crucial for electrical applicability. In this work, ceramic electrodes of 10 mm in diameter and varying ceramic thickness are operated at input powers up to 300 mW against non-biological counter electrodes. In a combined experimental and numerical approach, electric fields inside the ceramic are determined, whereas values are well below the dielectric strength of the material. The spectrally weighted plasma emission is within limit values of exposure to human skin as long as daily treatment does not exceed 7 h. Neutral gas temperatures of up to 310 K are determined which underline the minor thermal impact of the plasma exposure. In contrast, values for reduced electric fields are of the order of some hundred Townsend and thus the electrons can initiate various secondary effects such as chemical reaction chains. Consequently, ozone concentrations in the discharges are quantified between 230 ppm and 1140 ppm in close proximity to the actual discharge volume and the results are discussed in the frame of risk assessment for therapeutic applications in dermatology.

© 2013 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim

## 1 Introduction

Plasma medicine is an emerging, interdisciplinary research field that constitutes an interface between medicine, biology, physics and engineering. The overall objective is the utilization of stimulating or, more generally, beneficial effects of physical plasmas in medical therapies and indications. Studies in this area range from fundamental research on identification and elucidation of new effects in *in vitro* studies via application-oriented risk analysis up to clinical trials [1–7]. One of the most prominent aspects of plasma technology is the distinct microbicidal activity [8–10]. Inactivation of wound pathogens is one promising aspect in plasma-assisted or plasma-based therapies on wound healing. Another important aspect, that is up to now not fully understood, is the stimulation of cells and tissue to promote wound healing.

The majority of plasma sources applied for fundamental research or application-oriented studies provide a low-temperature, tissue-tolerable or also called cold atmospheric pressure plasma (CAP) [11–13]. Still, as during the development of the devices different technical concepts have been pursued, plasma sources vary in process parameters such as power consumption and density, electrical configuration and circuit, gas composition and flow rate, spectral emission and intensity as well as dimensions of the active plasma volume [14–18].

\* Corresponding author. E-mail: helmke@hawk-hhg.de, Phone: +49 551 3705 360, Fax: +49 551 3705 206

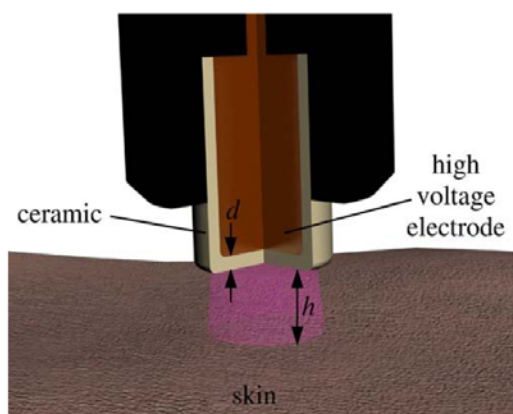
Up to now, it is not yet clear which set of process parameters is favourable for the plasma-based therapy of specific clinical pictures. As a consequence, it is necessary to quantify the parameters in order to facilitate the identification of causalities in systematic parametric studies. From a technical perspective, this approach requires distinct control on process parameters and plasma properties. Tuning of electric current flow, gas temperature, particle density and composition is facilitated to some extent by electrical and constructive measures as well as the deployed materials. In case of jet-like plasma sources, the free choice of feeding gas and flow rate is beneficial for process flexibility. Yet, plasma sources that are not conceptually designed for operation with feeding gases possess fewer mechanisms to control process parameters in general. Against this background, it is important to understand available mechanisms by studying the impact of key process parameters on the plasma characteristics by quantitative measurements.

In previous works, the characteristics of a dielectric barrier discharge (DBD) plasma source operated in ambient air with a fixed electrode design have been studied in various discharge modes [19–22]. The impact of variations in the electrode design, supply voltage and interelectrode distance on process parameters is subject of this study. In the frame of risk assessment and process characterisation for the development of DBD plasma sources for applications in dermatology, process parameters like mean electric power, maximum electric field strength inside the electrode material, plasma radiation, gas temperature, reduced electric field and concentration of ozone in the discharge volume are determined and discussed. All results in this work derive from measurements, where non-biological surfaces (metal, glass) are used as a counter electrode for the DBD arrangement. In contrast, the intended use of the plasma source is the application on biological tissue. An organic counter electrode, such as human skin, has specific properties which can affect the physical discharge parameters or plasma-chemical pathways. This mainly includes the presence of fluids and fatty compounds on the surface as well as increased humidity in the immediate vicinity of the skin.

Therefore, the quantitative results in this work cannot simply be transferred to the application of this sources on human skin. Instead, the results in this technical study were compiled to assess the regime of the plasma source in the frame of its intended use. In the development of medical devices, this is a regulatory necessity to generate a database on which the required ethic votes for clinical trials and consequently the prerequisites for the compilation of in-vivo data can be decided.

## 2 Experimental method

The plasma source studied in this work can basically be divided into two components - a power supply for the generation of high voltage pulses and the plasma electrodes. Throughout the study, a power supply developed by CINOGY GmbH (Duderstadt, Germany) is applied. It generates damped sinusoidal high voltage pulses of up to 17 kV (idle) at constant repetition rate of  $f = 300$  Hz and a pulse frequency in the range of some hundred kHz.



**Fig. 1** Rationale of intended plasma application on skin and definition of study variables.

**Table 1** Variable parameters in this study.

ceramic thickness $d$ [mm]	interelectrode distance $h$ [mm]	amplitude of voltage $\hat{u}$ [kV]
1.0	0.5	A = -7.9 to -9.4
1.5	1.0	B = -9.1 to -10.2
2.0	1.5	C = -10.2 to -11.5
	2.0	

During the study, the power supply is operated at low (A), average (B), and high (C) amplitude settings  $\hat{u}$  (see Tab. 1 for details).

The plasma electrodes are based on the concept of dielectric barrier discharges and are designed in a crucible shape. In accordance to earlier studies, the electrodes facilitate a diameter  $D = 10$  mm of the ceramic base plate. In Fig. 1 the principle layout of the intended plasma application on skin is illustrated. The ceramic thickness  $d$  of the ceramic electrodes is varied and amounts to 1.0 mm, 1.5 mm and 2.0 mm. An overview of variable parameters in this study is given in Tab. 1. The plasma electrodes are made of the machinable glass ceramic Macor<sup>®</sup> (Corning Incorporated, Danville, USA). This ceramic is well suited for the purpose of electrode manufacturing as it combines a high degree of constructional freedom with appropriate electrical properties - namely a relative permittivity of  $\epsilon_r = 6$  and dielectric strength of 40 kV/mm [23]. The ceramic crucibles are partly filled with a metal powder that serves as the high voltage electrode and is connected to the power supply. Throughout the study, the electrodes are operated at interelectrode distances  $h$  between 0.5 mm and 2.0 mm.

## 2.1 Electrical characteristics

As the capacitive load of each electrode is part of the secondary oscillator circuit of the power supply, the maximum amplitude  $\hat{u}$  delivered by the power supply is dependent not only on the internal amplitude setting of the device but also on the capacitive load. Consequently, as different electrodes with different capacities are being applied within this study, the amplitudes  $\hat{u}$  of supplied voltages differ slightly during operation with each particular electrode ( $d=1.0$ -2.0 mm) necessitating a bandwidth classification of power supply settings (A, B and C) in addition to specific values.

The time developing of the total electric current was recorded by a current monitor 2877 (Pearson Electronics Inc., Palo Alto, USA) while the P6015A voltage probe (Tektronix, Inc., Beaverton, USA) was applied for voltage measurements. Both probes were connected to a DL 1740E oscilloscope (Yokogawa Deutschland GmbH, Herrsching, Germany). Mean electrical input power  $P$  is calculated by multiplication of pulse repetition rate  $f$  and pulse energy according to equation (1). The pulse energy is determined by integrating the instantaneous input powers of the series connection of dielectric and gas capacity, the product of total voltage  $u_{(t)}$  and total current  $i_{(t)}$  according to Fig. 3, over the pulse duration  $T_{pulse}$ :

$$P = f \cdot \int_0^{T_{pulse}} u_{(t)} \cdot i_{(t)} dt. \quad (1)$$

In terms of operational stability and application safety, it is mandatory for all electrodes that the applied high voltage does not lead to the breakdown of the dielectric by overcoming the dielectric strength of the material. Consequently, all electrodes were subject to numerical simulations for the determination of electric field  $E$  inside the ceramic. Axial symmetry of the cylindrical electrodes facilitates the reduction to a 2D case and thereby enhances numerical efficiency.

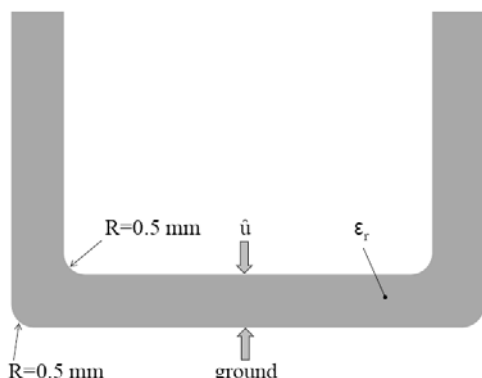
The definition of boundary conditions in the model constitutes a worst-case scenario rather than describing the physics of the microdischarges in full detail. An implicit and prominent feature of DBDs is the charge accumulation on the dielectric surfaces. At atmospheric pressure air, each microdischarge ignited in a DBD configuration transports a total charge in the order of nC [24]. Only after a few pulses, the surface charge builds up while it takes minutes to deplete [25]. This charging effect can result in a transient condition where the major part of the external voltage provided by the power supply drops over the dielectric. Furthermore, as the field strength  $E$  is a function of electric potential  $V$ , only the peak values of the external voltage pulses have to be considered in order to compute maximum field strengths. Hence, the numerical approach can be simplified to a stationary electrostatic description. The governing equation is Poisson's equation (2)

$$E = -\nabla V \quad (2)$$

which together with Gauss' law can be rewritten as a variant to (3)

$$-\nabla \cdot (\epsilon \cdot \nabla V - P) = \rho \quad (3)$$

while permittivity  $\epsilon = \epsilon_r \cdot \epsilon_0$  comprises of the relative permittivity of the material  $\epsilon_r$  and the permittivity of vacuum  $\epsilon_0 = 8.854187 \times 10^{-12} \text{ As/Vm}$ . Furthermore,  $P$  represents the electric polarization vector in units of  $\text{C/m}^2$ , and  $\rho$  is the space charge density in units of  $\text{C/m}^3$ .

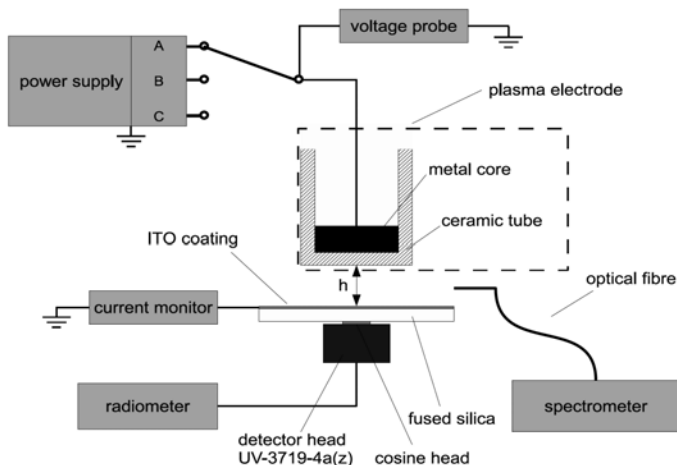


**Fig. 2** 2D numerical model of the electrodes with  $\hat{U}$  on the inner boundary and electrical ground on the outer boundary of the ceramic.

In order to cause the voltage drop over the dielectric, according to Fig. 2 the outer boundary of the ceramic is set as electrical ground. The inner boundary is defined as the maximum amplitude of the external voltage  $\hat{U}$ , which was determined experimentally. For the discretisation of the simulation domain, a mesh with elements of triangular shape is generated. It consists of up to 9900 elements in total, depending on the electrode variant. Equation (2) is solved by COMSOL Multiphysics 4.2a in all mesh elements giving the normalized electric field strength in  $\text{kV/mm}$  as the output value. The calculations were performed within  $< 2 \text{ s}$  for each electrode on a personal computer equipped with an Intel I7 950 CPU and 12 GB of RAM.

## 2.2 Plasma radiation

Depending primarily on working gas composition and in addition on experimental parameters such as pressure, local electric fields, energy density and total volume of microdischarges, each plasma emits radiation at a specific spectral and intensity distribution ranging from UV to VIS/NIR. As soon as rare gases are employed, the generation and transport of radiation in the vacuum ultraviolet (VUV) can become relevant [26,27], while with significant admixtures of air, VUV radiation is efficiently absorbed by the neutral gas components  $\text{O}_2$  (below 200 nm) and  $\text{N}_2$  (below 100 nm) [28,29]. Since the plasma source in this study transforms ambient air at atmospheric pressure into the plasma state, VUV emission produced in the discharge channels is efficiently absorbed by the ambient neutral gas before it impinges on the skin surface.



**Fig. 3** Experimental setup for electrical measurements as well as radiometric and spectroscopic measurements on emission by plasma electrodes operated against a partially transmitting counter electrode.

The schematic of the experimental setup for measurements in the UV-VIS range is depicted in Fig. 3. Each plasma electrode is consecutively connected to the power supply and operated against a grounded counter electrode which is mandatory in this single-electrode setup to ignite a discharge. The counter electrode comprises a fused silica (up to 500x500x2 mm<sup>3</sup>) covered by a thin indium tin oxide (ITO) layer (Prazisions Glas und Optik GmbH, Iserlohn, Germany). As the counter electrode is an absorbing medium, initially, only the lossy irradiances  $I_{abs}$  of plasma emission after transmission through the counter electrode are recorded in units of mW/m<sup>2</sup> applying an absolutely calibrated detector head UV-3719-4a(z) facilitating a cosine corrected field of view operated on a X1-1 optometer (Gigahertz-Optik, Tuerkenfeld, Germany). The transmittance spectrum  $T_\lambda$  of the counter electrode was recorded in units of percentage (see Fig. 8 for details) by a Lambda 650 spectrograph (PerkinElmer Inc., Rodgau, Germany). As depicted in the experimental setup, the plasma emission spectrum  $E_\lambda$  was recorded in arbitrary units at poor optical resolution within less than 10 s integration time applying a EPP2000C (StellarNet, Inc., Tampa, USA). The spectrometer with fibre was relatively calibrated in intensity using a deuterium source DH 2000 (Ocean Optics, Dunedin, USA).

There are two major rationales behind the following calculations: 1) during the intended application of the plasma electrodes against human skin, the tissue itself acts as the counter electrode and there is no additional absorbing material between the plasma and the tissue. Consequently, it appears reasonable to compensate for the transmission losses of the plasma radiation by the absorbing counter electrode to calculate intensities that are as close as possible to those occurring during the intended use on human skin. 2) This method generates spectrally resolved intensity distributions which facilitate a spectral weighting of the radiances to account for physiological properties of human skin.

Absolute values of  $I_{abs}$  as recorded by the detector head correlate with the integral of the plasma emission spectrum  $E_\lambda$  multiplied with the transmittance spectrum  $T_\lambda$  of the counter electrode within the sensitivity range of the detector (250-400 nm). Division of  $I_{abs}$  through the absolute value of this integral in equation (4) provides the proportionality factor  $X$  in units of mW/m<sup>2</sup>/nm:

$$X = \frac{I_{abs}}{\int_{250nm}^{400nm} E_\lambda \cdot T_\lambda d\lambda}. \quad (4)$$

Normalizing the plasma emission spectrum  $E_\lambda$  by multiplication with the proportionality factor  $X$  in equation (5) delivers a spectrally resolved intensity distribution  $I_\lambda$  in units of mW/m<sup>2</sup>/nm:

$$I_\lambda = E_\lambda \cdot X. \quad (5)$$

Implementing equation (4) into equation (5) in equation (6) facilitates the calculation of spectrally resolved intensity distributions close to those occurring during operation of the plasma electrodes against human skin:

$$I_\lambda = E_\lambda \cdot \frac{|I_{abs}|}{\left| \int_{250nm}^{400nm} E_\lambda \cdot T_\lambda d\lambda \right|}. \quad (6)$$

The International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP) has proposed spectral weighting factors  $S_\lambda$  for radiation in the range 200-400 nm to account for the wavelength dependent physiological efficacy of this radiation on human skin. An effective irradiance  $I_{eff}$  can be calculated by normalizing the spectrum to a monochromatic source at 270 nm via  $S_\lambda$  in equation (7) [30]:

$$I_{eff} = \int_{200nm}^{400nm} I_\lambda \cdot S_\lambda d\lambda. \quad (7)$$

Moreover, the ICNIRP has suggested a maximum dosage of effective exposure  $D_{max} = 30 \text{ J/m}^2$  per day. It is worth noting, that  $D_{max}$  was defined to minimize the long-term risk by skin exposure for the working population and thus can be considered a low-level limit not necessarily applicable for medical therapies, e.g., UVA and UVB

therapy for skin diseases [31, 32]. A safety-limited treatment duration  $T_{max}$  can be derived from the maximum effective exposure  $D_{max}$  and maximum effective irradiance  $I_{eff}$  in equation (8):

$$T_{max} = \frac{D_{max}}{I_{eff}}. \quad (8)$$

### 2.3 Gas temperature and reduced electric field

The emission spectra of the gas discharges were also recorded at high optical resolution. The counter electrode in Fig. 4 was therefore replaced by a stainless steel sheet of identical dimensions and the optical fibre was connected to an echelle spectrometer Aryelle Butterfly (LTB, Berlin, Germany) equipped with a CCD camera (Andor Technology, Belfast, United Kingdom) facilitating an optical resolution of 15,000. Both, the relatively low emission output of the DBD and the method-related low radiation throughput of the spectrometer, afforded a constant integration time of 33.3 min per measurement for reasonable signal-to-noise ratios. The intensity of the system was relatively calibrated applying a deuterium source DH 2000 (Ocean Optics, Dunedin, USA).

Due to low energy differences and high collision frequencies at atmospheric pressure,  $T_{rot}$  is often assumed to be in thermal equilibrium with the translational temperature  $T_{trans}$  of the neutral gas [14, 19]. This assumption facilitates the determination of the gas temperature  $T_{trans}$  via the spectroscopy-based determination of  $T_{rot}$ . Hereby, the experimental data on the rotational structure of rovibrational transitions of excited nitrogen molecules is compared to simulated spectra [33]. The code Specair has been successfully tested for simulating emission spectra of non-equilibrium plasmas in air and is applied in this work for the determination of  $T_{rot}$  at the 0-0 vibrational transition of the Second Positive System ( $C^3\Pi_u - B^3\Pi_g$ ) of  $N_2$  with a band head at 337.08 nm [34–36]. The rotational temperature of the state  $N_2(C^3\Pi_u)$  can be expected to correctly represent the ground state nitrogen of  $N_2$  [37, 38]. Spectrometer broadening is regarded in Specair by a slit function of trapezoidal shape with base 0.045 nm and top 0.003 nm.

Since the discharge is operated in pulsed mode, no stationary or quasi-stationary conditions in energy or density space can be established during operation. Thus, the gas volume in the gap is heated periodically during current flow (approx. 10  $\mu$ s) at pulse repetition frequency (approx. every 3 ms). Consequently, the time and space averaged signals recorded at integration times of 30 min per spectrum consist of accumulated emissions at different gas temperatures. In order to make statements about a rather maximum temperature during the active discharge phase and a mean gas temperature of the pulsed gas discharges, two different approaches were followed in the visual best-fit procedure of calculated spectra to the experimental data: 1) To determine a rather maximum gas temperature  $T_{gas,max}$ , only rotational levels  $27 \geq N' \leq 29$  of the P branches ( $P_1, P_2, P_3$ ) and R branches ( $R_1, R_2, R_3$ ) of the transition  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g, v'=0-0)$  were taken into account for the fitting procedure as these levels are the highest, non-superimposed rotational levels in our experimental data and are therefore most sensitive to rotational temperature. 2) However, for the determination of a mean gas temperature  $T_{gas,mean}$  the whole rotational structure of  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g, v'=0-0)$  between 333.8 nm and 337.1 nm was considered in the fitting procedure. The lower wavelength limit was chosen to avoid superposition with emission from the transition  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g, v'=1-1)$  with a band head at 333.7 nm.

Comparing experimental data on intensity ratios of the transitions  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g, v'=0-0)$  and  $N_2^+(B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+, v'=0-0)$  with calculated ratios from theoretical considerations facilitates the determination of the mean reduced electric field  $E/N$  of a gas discharge. This method is dependent on an appropriate collisional-radiative-model (CRM) in which the relevant physical mechanisms of the discharge at the specific experimental conditions are considered to balance the corresponding excitation and relaxation processes.

In atmospheric pressure air, an effective stepwise excitation of molecular and ionized nitrogen is hardly possible, as excited states are very effectively quenched by collisions with molecular oxygen. Consequently, usually only the electron impact excitation from the ground state is taken into account in the reaction schemes for population of excited states [40–43]. Typical reaction schemes regard depopulation by radiative transitions as well as two-body collisional quenching mechanisms with the latter being sensitive to gas pressure  $p$  and temperature  $T$ . In case of  $N_2^+(B^2\Sigma_u^+)$ , the role of quenching by three-body collisions like associative conversion to  $N_4^+$  or collisional quenching with  $O_2$  as one of the collision partners as well as uncertainties in rate constants is controversially discussed [43].



In [42], Pancheshnyi states, that in air at room temperature at pressures higher than 26 kPa, the dominant way of  $N_2^+$  deactivation is associative conversion and that the comparison of experimental data on streamer discharges using such a reaction scheme with numerous streamer simulations has revealed good agreement. The experimental conditions in this study with the DBD operating in the filamentary mode are within the regime of temperature, pressure and breakdown mechanism referred to in [42], whereas we choose to use the proposed reaction scheme in our CRM. However, we have calculated the rate coefficients  $k_{em,337}$  and  $k_{em,391}$  for emission on our own. Therefore, in a first step, electron velocity distribution functions (EVDF) were determined in the range 100–700 Td ( $1 \text{ Td} = 1 \times 10^{-17} \text{ V cm}^2$ ) by applying the Boltzmann solver BOLSIG<sup>+</sup> for a mixture of  $N_2$  (78 %) and  $O_2$  (22 %) [45]. Gas temperature was set to 310 K and electron-electron-collisions were regarded for typical DBD conditions by an ionization degree of  $1 \times 10^{-6}$  and electron density of  $5 \times 10^{19} \text{ m}^{-3}$ . Afterwards, each EVDF was normalized via equation (9)

$$\int_0^{\infty} f(E) \sqrt{E} dE = 1. \quad (9)$$

The rate coefficients for emission of  $N_2(C^3\Pi_u - B^3\Pi_g, v'=0-0)$  and  $N_2^+(B^2\Sigma_u^+ - X^2\Sigma_g^+, v'=0-0)$  by electron impact excitation of neutral ground state molecules were finally calculated via equation (10) by the use of appropriate emission cross sections  $\sigma_{em}$  for each transition [46,47]

$$k_{em} = \int_{E_{threshold}}^{\infty} \sigma_{em}(E) \cdot \sqrt{\frac{2e}{m_e}} \cdot E \cdot f(E) dE. \quad (10)$$

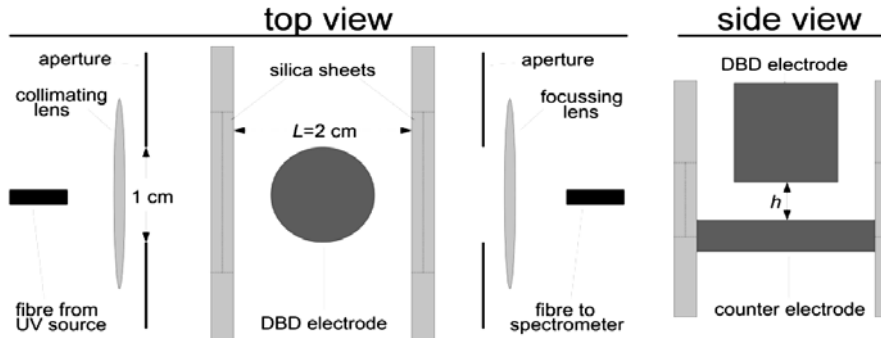
Quenching of  $N_2(C^3\Pi_u, v'=0)$  by two-body collisions with neutral gas components  $N_2$  and  $O_2$  was regarded by rate constants  $k_{q,N_2}^C$  and  $k_{q,O_2}^C$ , whereas for the excited state of the nitrogen ion we regarded quenching by  $k_{q,N_2}^B$  and  $k_{q,O_2}^B$  as well as the three-body collisional term  $k_{conv}^B$ . All rate constants as well as the lifetimes  $\tau_0$  of the excited states were taken from [48] except for  $k_{conv}^B$ , which was taken from [44]. Together with relative concentrations of  $N_2$  (78 %) and  $O_2$  (22 %) and absolute particle density  $N$  at 310 K, values for quenching factors  $g$  were determined and the intensity ratio  $R_{391/337}$  was calculated as a function of  $E/N$  as described in [42]. The results for  $R_{391/337}$  in this work are in good agreement with the data in [42]. Experimental intensities  $I_{337}$  and  $I_{391}$  were derived from integration within appropriate intervals around the band heads while the ratio  $R_{391/337}$  was applied to determine values for mean reduced electric field  $E/N$  of the discharges.

#### 2.4 Ozone concentration

A controlled exposure of cutaneous lesions to ozone has been demonstrated to be beneficial in dermatology [49–51]. The determination of a spatially averaged concentration of ozone in the plasma volume provides a degree of comparability of the results with clinical data, where ozone is frequently applied by localised ozone-filled cavities on the surface of the skin of patients. Therefore, mean concentrations in the interelectrode space were determined by means of UV absorption spectroscopy, which has been successfully applied to determine ozone concentrations in gas discharges [52–54]. At a wavelength of  $\lambda = 255 \text{ nm}$ , this method is characterised by high sensitivity and good selectivity, as the largest absorption cross section  $\sigma$  of further, typical air plasma components,  $N_2O_4$  and  $N_2O_5$ , are one and respectively two orders of magnitude beneath the cross section of  $O_3$  while furthermore ozone is expected to possess the highest particle density under the experimental conditions in this study [39,55–57].

The scheme of the experimental setup is shown in Fig. 4. Here, the mean ozone concentration in the gas volume restricted by the dielectric of the DBD electrode, a grounded counter electrode made of stainless steel and the silica sheets can be determined. Quasimonochromatic radiation at a wavelength of  $\lambda = 255 \text{ nm}$ , generated by a low pressure mercury lamp TUV PL-S 9W/2P (Philips, Hamburg, Germany), is conducted through the discharge volume via optical fibres and lenses while the diameter of the optical path is restricted to the electrode diameter by apertures. The transmitted radiance is analysed by a spectrometer AvaSpec-3648-USB2 (Avantes BV, Apeldoorn, Netherlands) equipped with a  $10 \mu\text{m}$  slit. Both fused silica sheets are positioned radial to the symmetry axis of the ceramic electrode each at a distance of 1 cm constituting a constant absorption length  $L$  of 2 cm. The rationale

of this arrangement is a compromise between the method based requirement for a defined absorption length and the restriction of heavy gas species diffusion in one spatial direction.



**Fig. 4** Scheme of experimental setup for the detection of ozone concentration by the UV absorption method.

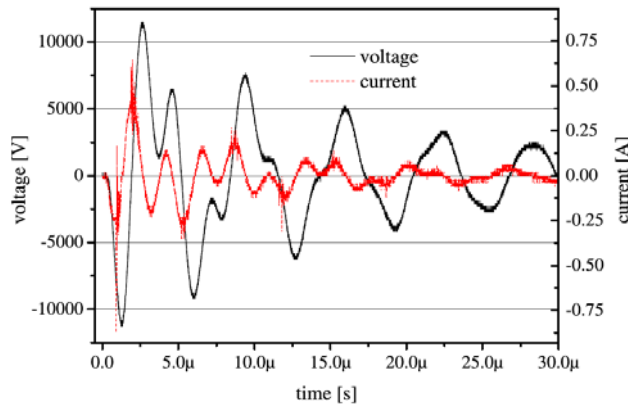
Based on empirical data, for the clinical use of plasma sources as described in this work, a maximum treatment duration of 45 s per area of skin is desired. Since during this period no steady-state conditions can be established, the ozone concentration increases steadily until the ozone production finally ceases after 45 s by turning off the plasma source. As a consequence, from a safety viewpoint, the highest ozone exposure of the human skin is to be expected at the time of the shutdown of the source. Therefore, mean values and standard deviations of ozone concentrations were calculated from the intensity data at a constant duration of 45 s after ignition of the plasma ( $N=5$ ). The Beer-Lambert law (11) describes the formal relationship between intensity  $I_t$  and ozone concentration  $c_{\text{ozone}}$ . Hereby,  $I_0$  represents the intensity without the gas discharge while  $L$  is the absorption length. The ozone-specific absorption cross section  $\sigma_{255 \text{ nm}}$  accounts to  $1.14 \times 10^{-17} \text{ cm}^2$  [56]. The concentration  $c_{\text{ozone}}$  in air can be calculated by division through the gas density ( $n_{\text{gas}} = 2.3675 \times 10^{19} \text{ cm}^{-3}$  at gas temperature  $T_{\text{gas}} = 310 \text{ K}$ ):

$$c_{\text{ozone}} = \frac{-\ln\left(\frac{I_t}{I_0}\right)}{\sigma_{255 \text{ nm}} \cdot L \cdot n_{\text{gas}}}. \quad (11)$$

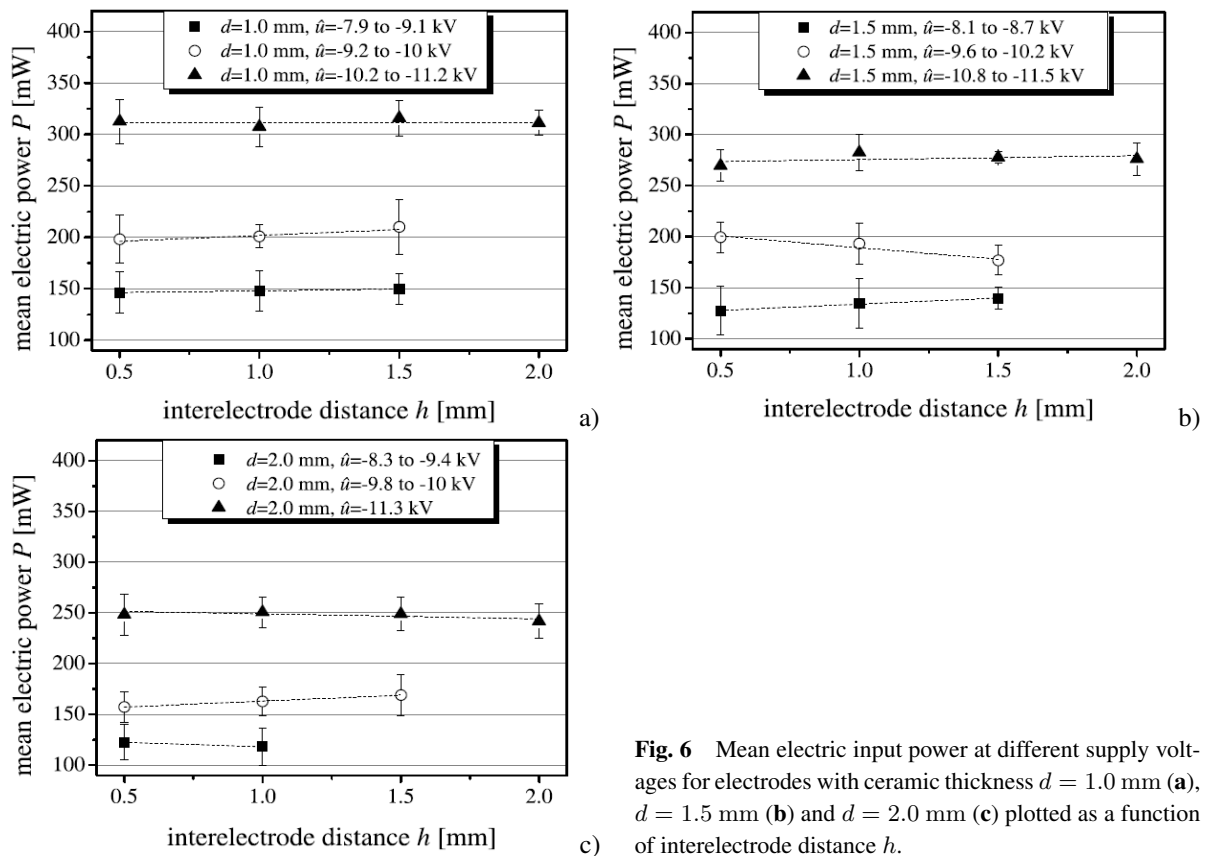
### 3 Results

#### 3.1 Electrical characteristics

A typical current-voltage characteristic of the discharge is illustrated in Fig. 5. The voltage pulse form is generated by the internal circuit of the power supply and the current waveform consists of displacement and conduction fractions. Even though instantaneous values of total current amount close to 1 A, the effective value (rms) over one pulse period is not exceeding 10 mA.



**Fig. 5** Current-voltage characteristic of a plasma electrode with ceramic thickness  $d=1.0 \text{ mm}$  operated at an interelectrode distance of  $h=1.0 \text{ mm}$  and  $\hat{u}=-11 \text{ kV}$ .

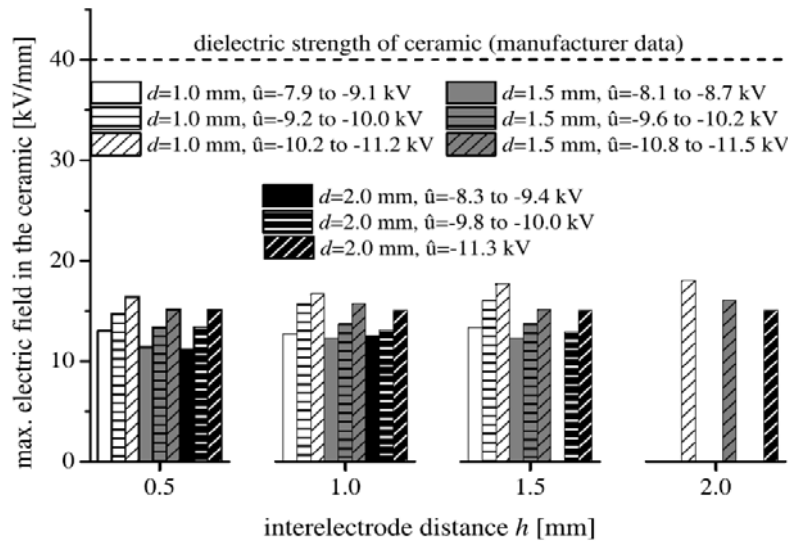


**Fig. 6** Mean electric input power at different supply voltages for electrodes with ceramic thickness  $d = 1.0$  mm (a),  $d = 1.5$  mm (b) and  $d = 2.0$  mm (c) plotted as a function of interelectrode distance  $h$ .

Mean input powers  $P$  are depicted as a function of interelectrode distance  $h$  for electrodes with different ceramic thickness  $d$  and at different amplitudes  $\hat{u}$  of the supply voltage in Fig. 6a-c. Each measurement was repeated five times to calculate mean values and standard deviation. Overall, values are in the range of 125–310 mW depending primarily on supply voltage amplitude  $\hat{u}$ .

It is interesting to note, that with increasing ceramic thickness of the electrode, the electric input power decreases. The capacity of the ceramic electrode is back coupled to the electric circuit of the power supply and thereby affects the maximum voltage amplitude  $\hat{u}$  delivered by the device. Hereby, a thinner ceramic leads to a higher capacity which by trend decreases the voltage amplitude. On the other hand, as the DBD arrangement corresponds to the concept of capacitive voltage division, a thinner ceramic favors a higher potential drop in the interelectrode space. It appears, that the effect of decreasing the voltage amplitude is overcompensated by the more effective coupling of electric potential into the gas gap which leads to a higher energy stored in the gas space. In contrast, a thicker ceramic decreases the electric potential over the interelectrode space to a level, where the resulting electric field can not be sufficient for stable gas ignition. This is the reason why in contrast to Fig. 6a-b no value for electric power at  $h=1.5$  mm and low voltage setting is given in Fig. 6c.

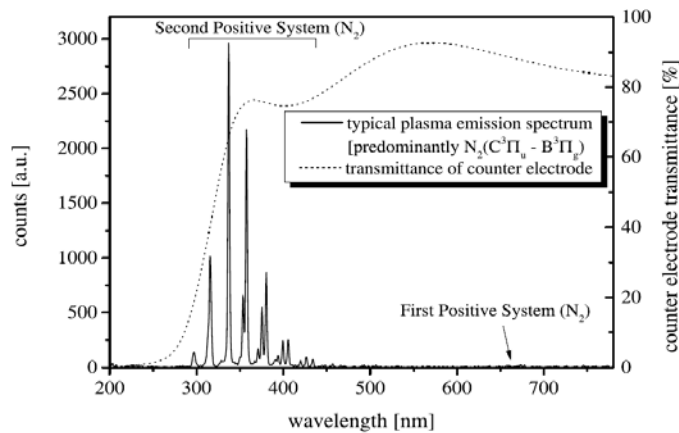
Also values for electric field inside the material are predominantly dependent on the supplied voltage rather than the ceramic thickness. In the dataset, values for  $\hat{u}$  vary between 7.9 kV and 11.5 kV under load of the electrodes. The resulting electric field strengths in Fig. 7 for ceramic thickness  $d$  of 1.0 mm, 1.5 mm and 2.0 mm and interelectrode distances  $h$  between 0.5 mm and 2.0 mm never exceed 18 kV/mm. Thus, operating the electrodes within the parametric range of this study can be considered safe with regard to dielectric breakdown of the ceramic, as electric fields in the material are always more than a factor of two below the threshold value of 40 kV/mm [23].



**Fig. 7** Maximum field strength inside the ceramic material for plasma electrodes with ceramic thickness  $d$  of 1.0 mm, 1.5 mm and 2.0 mm operated at different supply voltages. Missing values for  $h=1.5$  mm and  $h=2.0$  mm indicate no stable gas discharge.

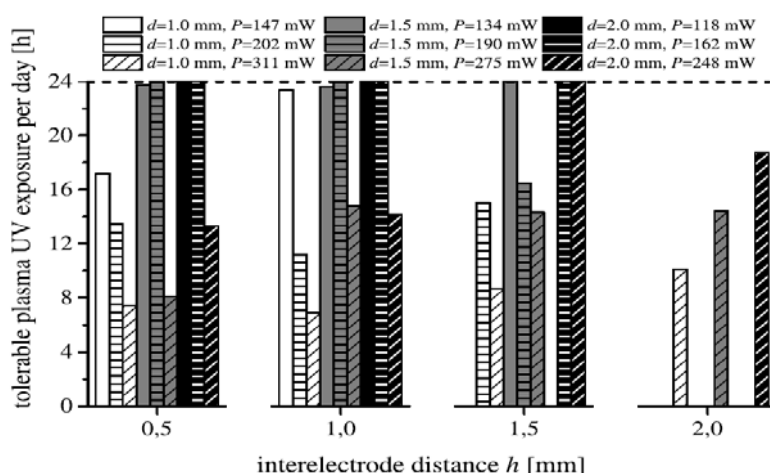
### 3.2 Plasma radiation

As the concept of the plasma source is the transformation of ambient air in the interelectrode space into the plasma state, the emission spectra of the discharges are dominated by emission lines of the Second Positive System ( $C^3\Pi_u - B^3\Pi_g$ ) of  $N_2$  with only minor contributions from the the First Negative System (overlain by the SPS) and the First Positive System. No emission below  $\lambda=295$  nm can be observed. A typical plasma emission spectrum recorded at low spectral resolution as well as the spectral transmittance of the counter electrode applied for the determination of plasma irradiances are depicted in Fig. 8.



**Fig. 8** Typical plasma emission spectrum and spectral transmittance of the counter electrode. Bandheads of the FNS are overlain by the SPS at this spectral resolution.

The tolerable daily plasma treatment time  $T_{max}$  for plasma electrodes of different ceramic thickness  $d$  operated at different amplitude settings of the power supply are given as a function of the interelectrode distance  $h$  in Fig. 9. Missing values for  $h = 1.5$  mm and  $h = 2.0$  mm indicate, that the electric field in the interelectrode space does not facilitate a stable operation. Naturally, this effect is most pronounced at voltage setting A which features the lowest voltage amplitudes from 7.9 kV to 9.4 kV. With respect to the clinical practice, this may necessitate the use of a spacer when operated at low voltage settings. As could be expected, at higher voltage amplitudes promoting stable discharge conditions the values for a tolerable skin exposure to plasma generated UV irradiation scale inversely proportional to the input power. Yet, within the parametric range of this study, the tolerable skin exposure never falls below 7 h per day.



**Fig. 9** Tolerable skin exposure to plasma radiation per day. Electrodes with ceramic thicknesses of  $d=1.0$  mm,  $d=1.5$  mm and  $d=2.0$  mm where operated at different input powers and interelectrode distances  $h$ .

DBD plasma treatment has been demonstrated to act bactericidal on selected wound pathogens in an in vitro environment only after a treatment of a few seconds by Daeschlein et al. [8]. Currently, the only existing in vivo data on plasma assisted wound antisepsis published by Isbary et al. indicate a significant 20-40 % reduction of bacterial load for a daily plasma treatment of 5 min in addition to standard wound care [2]. Yet, these data are difficult to compare as the technical approach as well as electrical parameters of both plasma sources are completely different and furthermore the devices feature a different plasma chemistry. Neutral gas temperatures of plasma torches operated under conditions documented in Isbary et al. are typically significantly higher than gas temperatures of dielectric barrier discharges at experimental conditions of this work. As the rate constants for generation of NO are strongly related to gas temperature and already small amounts of NO<sub>x</sub> species prevent the formation of ozone, the plasma chemistry of the plasma torch may be working in the NO-regime rather than in the OH – O<sub>3</sub>-regime like the source discussed in this work. Consequently, the modes of action would be different and results can not be directly transferable.

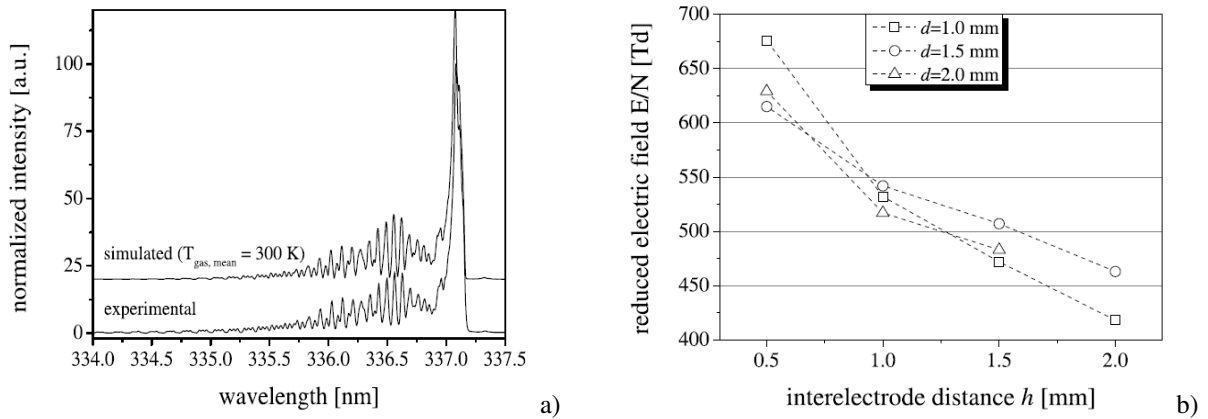
However, there are no references indicating a drastically worse bactericidal efficiency for dielectric barrier discharge sources. So in view of the experimental results within the parametric range of this study, the UV irradiation induced by the plasma source is not expected to be a limiting factor on exposure times during in vivo applications on human skin.

### 3.3 Gas temperature and reduced electric field

Gas heating in the microdischarges is closely linked to the characteristics of the electric current flow. The gas is heated repeatedly to maximum values between 375 K and 450 K within the parametric range of this study. These temperatures are reached within the very short duration of the current pulses (some  $\mu$ s) but decline to room temperature by heat energy transfer via conduction to the surrounding neutral gas within only some ms [19]. Yet, relevant for treatment of heat-sensitive materials is not the transient value of the gas temperature but the amount of heat energy stored in the material within typical processing times of seconds to minutes. Hence, the mean gas temperature has a greater significance in the assessment of heat transfer into tissue. Within the range of experimental settings, the mean gas temperature  $T_{gas,mean}$  is close to room temperature with values between 300 K and 310 K as depicted exemplarily by comparison of experimental data with numerical data on the rotational structure of the 0-0-transition of N<sub>2</sub>(C<sup>3</sup>Π<sub>u</sub> – B<sup>3</sup>Π<sub>g</sub>) in Fig. 10a.

In order to point out the non-equilibrium plasma conditions, values for reduced electric field  $E/N$  were determined. The parameter  $E/N$  is directly related to the electron temperature, as, for example, the mean kinetic energy of the electrons in an air plasma at 500 Td corresponds to approx. 10 eV or 80.000 K. The results for electrodes with three different ceramic thicknesses  $d$  are given as a function of interelectrode distance  $h$  in Fig. 10b. The voltage setting at the power supply was kept constant. It is obvious, that the reduced electric

field is a function of the interelectrode space rather than the ceramic thickness  $d$  within the parametric range and experimental uncertainty. Hereby, the reduced electric field decreases almost linearly with increasing distance between electrodes. The same general trend could be observed in Kuchenbecker et al. [19]. In their work, values for reduced electric fields are generally lower. This might be explained by the sum of experimental and methodical differences to whom the determination of  $E/N$  is sensitive. The electrode they have applied was made of a different material ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), the high voltage pulse is not identical, their method was based on an absolute calibration of the spectrometer facilitating spatial resolution and furthermore they have used a different numerical code to solve the Boltzmann equation.



**Fig. 10** (a) Mean gas temperature of the gas discharge operated with an electrode of ceramic thickness  $d=1.0$  mm, interelectrode distance  $h=1.5$  mm,  $\bar{u}=-11$  kV, and  $P=311$  mW. For clarity, experimental and numerical data are vertically shifted. (b) Time and space averaged values for reduced electric field  $E/N$  of the gas discharges at various ceramic thicknesses  $d$  plotted against interelectrode distance  $h$ . Electrodes were operated at  $\bar{u}=-10.2$  to  $-11.5$  kV. The missing value for  $d=2.0$  mm at  $h=2.0$  mm indicates no stable operation.

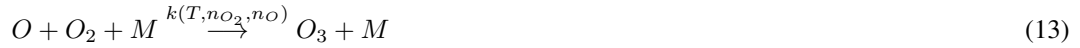
### 3.4 Ozone concentration

Ozone concentrations  $c_{\text{ozone}}$  at 45 s after ignition of the discharge are given as a function of interelectrode distance  $h$  for electrodes with different ceramic thickness  $d$  operated at different mean electric powers  $P$  in Fig. 11. Air temperature and relative humidity were stable throughout the experiments with values of  $24.1 \pm 0.3$  °C and  $54.9 \pm 1.3$  % respectively.

Mean ozone concentrations in the interelectrode space amount to values between 230 ppm to 1140 ppm depending strongly on interelectrode distance and input power. Comparing ozone concentrations depicted in Fig. 11a) for a ceramic thickness of  $d=1.0$  mm, the interelectrode distance has a more pronounced impact on absolute ozone concentration than the input power. In fact, at  $h=0.5$  mm the gas discharge yields 2.5 ppm/mW at 147 mW, while increasing the input power to 311 mW decreases the ozone yield to 0.9 ppm/mW. However, this counterintuitive effect is less pronounced as soon as the interelectrode distance is increased. Ozone concentrations of discharges operated by an electrode of ceramic thickness  $d=1.5$  mm exhibit a completely different pattern. Concentrations in Fig. 11b) scale with input power rather than with interelectrode distance, while at  $d=2.0$  mm in Fig. 11c) both parameters significantly influence the ozone concentration. In summary, no general trend can be derived for ozone concentration as a function of ceramic thickness  $d$ , as the complex mechanisms for ozone generation and depletion are supposed to be more dominant.

In fact, the spatiotemporal ozone concentration in the sample volume is dependent on many process parameters such as input power, reduced electric field, gas temperature, electron density but also density of other plasma species and humidity. Finally, the degree of filamentation and number of microdischarges, which was not determined in this work, has a fundamental impact on energy density and gas temperature which is crucial for chemical reaction rates. The dominant mechanisms for the formation of ozone in a two-step process are given by equations 12 and 13:

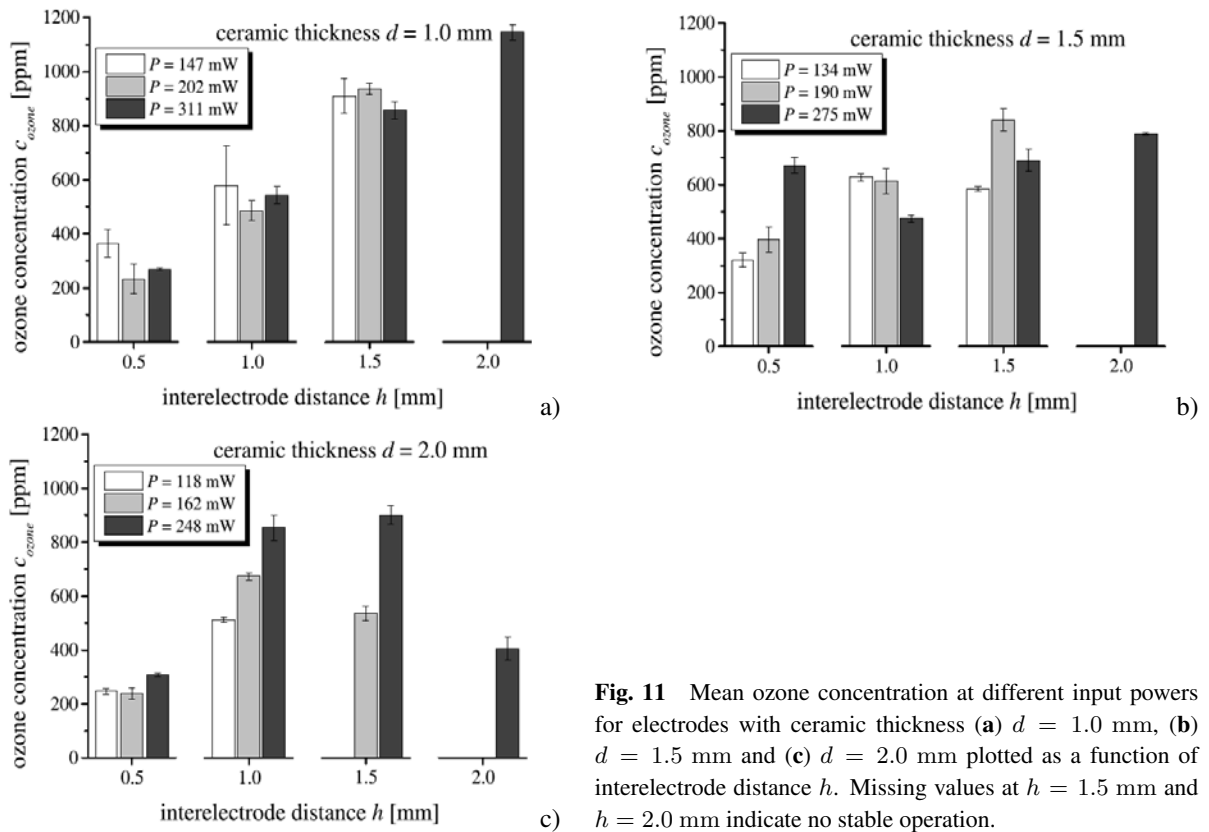




The formation of ozone in air can be significantly affected by the presence of only small admixtures (in permil range) of  $NO_x$  as reaction rates for atomic oxygen are faster with NO and  $NO_2$  than they are with  $O_2$  [39, 58]. Ozone molecules are lost in view of a stationary sample volume via pathways involving diffusion into the surrounding, electron-impact-dissociation (14), thermally driven dissociation (15) and by reactions with reactive plasma species, e.g., reaction (16) and (17) only to name a few:



Compared to concentrations applied to human skin in an ozone based clinical trial, values determined in the plasma volume are relatively low. The maximum ozone concentration in this work accounts to 2.5 mg/l. Martinez-Sanchez et al. have successfully tested the therapeutic efficacy of ozone in the treatment of patients with type 2 diabetes and diabetic feet applying concentrations of 60 mg/l over 1 h with no harmful side effects observed during the study [49]. In another study, Valacchi et al. have conducted a quasi-total body exposure of patients in a closed cabin with ozone concentrations of 0.9 mg/l for a few minutes without observing negative side effects [59].



**Fig. 11** Mean ozone concentration at different input powers for electrodes with ceramic thickness (a)  $d = 1.0$  mm, (b)  $d = 1.5$  mm and (c)  $d = 2.0$  mm plotted as a function of interelectrode distance  $h$ . Missing values at  $h = 1.5$  mm and  $h = 2.0$  mm indicate no stable operation.

However, in view of operational safety, the ozone concentration in the discharge volume is quite high when compared to standard limits of 0.1 ppm over a period of 8 h per day as proposed by the Occupational Safety and Health Administration (OSHA) as well as other public authorities. Yet, it is important to note that this limit

value was established to avoid harmful effects of ozone on the respiratory tract and therefore refers to inhaled air and not exposure of cutaneous tissue. As the only source for ozone is the gas discharge itself, the relatively high concentrations are a function of time and space, whereas significant dilution effects can be expected in only some cm distance from the relatively low plasma volume. Still, this safety limit has to be addressed in order to exclude a health hazard to patients and attending physicians during plasma operation.

In the frame of this study, no experimental dataset on the ozone concentration in the ambient air has been accomplished. Consequently, only theoretical considerations can be conducted to estimate ozone concentration in inhaled air: Even though experimentally determined ozone concentrations are of the order of some hundred ppm, the total number of ozone molecules generated by the gas discharge is restricted by the relatively small plasma volume of  $1.6 \times 10^{-5} \text{ m}^3$ . Via diffusion, ozone molecules gradually mix with surrounding neutral air which significantly decreases the concentration before reaching the respiratory organs. By integrating the mean ozone concentration in the sample volume over a period of 45 s of plasma operation, the total particle number generated in the sample volume can be calculated. The particles emitted into the environment via diffusion can not be measured and are therefore taken into account by assuming the same particle number as for the sample volume. Under the assumption that the ozone molecules mix homogeneously with  $1 \text{ m}^3$  of fresh air, the total concentration of ozone within  $1 \text{ m}^3$  amounts to only 0.014 ppm which is roughly an order of magnitude below the standard limit of 0.1 ppm. These rough theoretical calculations do not necessarily indicate a limitation of treatment time for plasma-based medical therapies applying DBD plasma sources at appropriate parameters. Among the safety aspects studied in this work, ozone emission might be considered a potentially limiting process parameter for treatments of the order of 1 min and thus is currently being studied as a function of radial distance to the discharge volume by different techniques.

In general, the applicability of plasma sources in dermatology depends on the ratio between advantages and disadvantages. Even today's treatments with UVA and UVB therapy could generate side effects. Therefore, the choice of each particular method of therapy must be made carefully on a solid data and knowledge base.

**Acknowledgements** This study was part of the joint research project "Campus PlasmaMed Phase 2" supported by the German Federal Ministry of Education and Research (grant no. 13N11190 and grant no. 13N11185) to whom the authors wish to express their gratitude.

## References

- [1] G. Daeschlein, S. Scholz, R. Ahmed, A. Majumdar, T. von Woedtke, H. Haase, M. Niggemeier, E. Kindel, R. Brandenburg, K.D. Weltmann, and M. Juenger, *JDDG* **10**, 1-7 (2012).
- [2] G. Isbary, G. Morfill, H. Schmidt, M. Georgi, K. Ramrath, J. Heinlin, S. Karrer, M. Landthaler, T. Shimizu, B. Steffes, W. Bunk, R. Monetti, J. Zimmermann, R. Pompl, and W. Stolz, *Br. J. Dermatol.* **163**, 78-82 (2010).
- [3] E. Noriega, G. Shama, A. Laca, M. Diaz, and M.G. Kong, *Food Microbiol.* **28**, 1293-1300 (2011).
- [4] K.P. Arjunan, G. Friedman, A. Fridman, and A.M. Clyne, *J. R. Soc. Interface* **9**, 147-157 (2012).
- [5] S.A. Ermolaeva, A.F. Varfolomeev, M.Y. Chernukha, D.S. Yurov, M.M. Vasiliev, A.A. Kaminskaya, M.M. Moiseyov, J.M. Romanova, A.N. Murashev, I.I. Selezneva, T. Shimizu, E.V. Sysolyatina, I.A. Shaginyan, O.F. Petrov, E.I. Mayevsky, V.E. Fortov, G.E. Morfill, B.S. Naroditsky, and A.L. Gintsburg, *J. Med. Microbiol.* **60**, 75-83 (2011).
- [6] K. Wende, K. Landsberg, U. Lindequist, K.D. Weltmann, and T. von Woedtke, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **38**, 2479-2485 (2010).
- [7] A. Helmke, D. Hoffmeister, N. Mertens, S. Emmert, J. Schuette, and W. Vioel, *New J. Phys.* **11**, 115025 (10pp) (2009).
- [8] G. Daeschlein, S. Scholz, A. Arnold, S. von Podewils, H. Haase, S. Emmert, T. von Woedtke, K.D. Weltmann, and M. Juenger, *Plasma Processes Polym.* **9**, 380-389 (2012).
- [9] A. Helmke, P. Gruenig, U.M. Fritz, D. Wandke, S. Emmert, K. Petersen, and W. Vioel, *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* **7**, 223-230 (2012).
- [10] J. Ehlbeck, U. Schnabel, M. Polak, J. Winter, T. von Woedtke, R. Brandenburg, T. von dem Hagen, and K.D. Weltmann, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **44**, 013002(18pp) (2011).
- [11] P. Awakowicz, N. Bibinov, M. Born, B. Busse, R. Gesche, A. Helmke, A. Kaemling, V. Kolb-Bachofen, R. Kovacs, S. Kuehn, J. Liebmman, N. Mertens, U. Niemann, C. Oplaender, H.E. Porteanu, J. Scherer, C. Suschek, W. Vioel, and D. Wandke, *Contrib. Plasma Phys.* **49**, 641-647 (2009).
- [12] K.D. Weltmann, E. Kindel, R. Brandenburg, C. Meyer, R. Bussiahn, C. Wilke, and T. von Woedtke, *Contrib. Plasma Phys.* **49**, 631-640 (2009).



- [13] M.G. Kong, G. Kroesen, G. Morfill, T. Nosenko, T. Shimizu, J. van Dijk, and J.L. Zimmermann, *New J. Phys.* **11**, 115012 (35pp) (2009).
- [14] M. Laroussi and X. Lu, *Appl. Phys. Lett.* **87**(11), 1139021-3 (2005).
- [15] G. Fridman, A. Shereshevsky, M. Jost, A. Brooks, A. Fridman, A. Gutsol, V. Vasilets, and G. Friedman, *Plasma Chem. Plasma Process.* **27**, 163-176 (2007).
- [16] S. Tuemmel, N. Mertens, J. Wang, and W. Vioel, *Plasma Processes Polym.* **4**(S1), S465-S469 (2007).
- [17] T. Shimizu, B. Steffes, R. Pompl, F. Jamitzky, W. Bunk, K. Ramrath, M. Georgi, W. Stolz, H. Schmidt, T. Urayama, S. Fujii, and G.E. Morfill, *Plasma Processes Polym.* **5**, 577-582 (2008).
- [18] K.D. Weltmann, E. Kindel, T. v. Woedtke, M. Haehnel, M. Stieber, and R. Brandenburg, *Pure Appl. Chem.* **82**, 1223-1237 (2010).
- [19] M. Kuchenbecker, N. Bibinov, A. Kaemling, D. Wandke, P. Awakowicz, and W. Vioel, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **42**, 045212 (10pp) (2009).
- [20] P. Rajasekaran, P. Mertmann, N. Bibinov, D. Wandke, W. Vioel, and P. Awakowicz, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **42**, 225201 (8pp) (2009).
- [21] P. Rajasekaran, P. Mertmann, N. Bibinov, D. Wandke, W. Vioel, and P. Awakowicz, *Plasma Processes Polym.* **7**, 665-675 (2010).
- [22] P. Rajasekaran, C. Oplaender, D. Hoffmeister, N. Bibinov, C.V. Suschek, D. Wandke, and P. Awakowicz, *Plasma Processes Polym.* **8**, 246-255 (2011).
- [23] Database of HBIsoliertechnik GmbH, <http://www.final-materials.com/applications/products/machinable-technical-ceramic-30.html?lang=en>.
- [24] U. Kogelschatz, *Proceedings of 7th International Symposium on High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry (HAKONE)*, September 10th-13th, Greifswald, Germany (2000).
- [25] D.F. Opaitis, M.N. Shneider, R.B. Miles, A.V. Likhanskii, and S.O. Macheret, *Phys. Plasmas* **15**, 073505 (2008).
- [26] N. Masoud, K. Martus, and K. Becker, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **38**, 1674-1683 (2005).
- [27] R. Foest, T. Bindemann, R. Brandenburg, E. Kindel, H. Lange, M. Stieber, and K.D. Weltmann, *Plasma Processes Polym.* **4**, 460-464 (2007).
- [28] K. Yoshino, W. Parkinson, K. Ito, and T. Matsui, *J. Mol. Spectrosc.* **229**, 238-243 (2005).
- [29] W. Chan, G. Cooper, R. Sodhi, and C. Brion, *Chem. Phys.* **170**, 81-97 (1993).
- [30] ICNIRP, *Health Phys.* **87**, 171-186 (2004).
- [31] M. Grundmann-Kollmann, R. Ludwig, T.M. Zollner, F. Ochsendorf, D. Thaci, W.H. Boehncke, J. Krutmann, R. Kaufmann, and M. Podda, *J. Am. Acad. Dermatol.* **50**, 734-739 (2004).
- [32] A. Kreuter, J. Hyun, M. Stuecker, A. Sommer, P. Altmeyer, and T. Gambichler, *J. Am. Acad. Dermatol.* **54**, 440-447 (2006).
- [33] A. Chelouah, E. Marode, G. Hartmann, and S. Achat, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **27**, 940-945 (1994).
- [34] C.O. Laux, T.G. Spence, C.H. Kruger, and R.N. Zare, *Plasma Sources Sci. Technol.* **12**, 125-138 (2003).
- [35] D. Staack, B. Farouk, A.F. Gutsol, and A.A. Fridman, *Plasma Sources Sci. Technol.* **15**, 818-827 (2006).
- [36] Z. Machala, M. Janda, K. Hensel, I. Jedlovsk, L. Lestinsk, V. Foltin, V. Martisovits, and M. Morvov, *J. Mol. Spectrosc.* **243**, 194-201 (2007).
- [37] U. Fantz, *Plasma Phys. Control. Fusion* **40**, 1035-1056 (1998).
- [38] N.N. Sobolev, *Electron-excited molecules in nonequilibrium plasma* (Commack, NY (USA); Nova Science Publishers, Inc., 1989).
- [39] B. Eliasson and U. Kogelschatz, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **19**, 309-323 (1991).
- [40] K.V. Kozlov, H.-E. Wagner, R. Brandenburg and P. Michel, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **34**, 3164-3176 (2001).
- [41] P. Paris, M. Aints, F. Valk, T. Plank, A. Haljaste, K.V. Kozlov, and H.E. Wagner, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **38**, 3894-3899 (2005).
- [42] S. Pancheshnyi, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **39**, 1708-1710 (2006).
- [43] P. Paris, M. Aints, F. Valk, T. Plank, A. Haljaste, K.V. Kozlov, and H.E. Wagner, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **39**, 2636-2639 (2006).
- [44] I.A. Kossyi, A.Y. Kostinsky, A.A. Matveyev, and V.P. Silakov, *Plasma Sources Sci. Technol.* **1**, 207-220 (1992).
- [45] G.J.M. Hagelaar and L.C. Pitchford, *Plasma Sources Sci. Technol.* **14**, 722-733 (2005).
- [46] D.E. Shemansky and J.M. Ajello, *Astrophys. J.* **452**, 472-479 (1995).
- [47] W.L. Borst and E.C. Zipf, *Phys. Rev. A* **1**, 834-840 (1970).
- [48] F. Valk, M. Aints, P. Paris, T. Plank, J. Maksimov, and A. Tamm, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **43**, 385202 (8pp) (2010).
- [49] G. Martinez-Sanchez, S.M. Al-Dalain, S. Menendez, L. Re, A. Giuliani, E. Candelario-Jalil, H. Alvarez, J.I. Fernandez-Montequin, and O.S. Leon, *Eur. J. Pharmacol.* **523**, 151-161 (2005).
- [50] V. Travagli, I. Zanardi, G. Valacchi, and V. Bocci, *Mediat. Inflamm.* **2010**, 1-9 (2010).
- [51] J. Wainstein, Z. Feldbrin, M. Boaz, and I. Harman-Boehm, *Diabetes Technol. Ther.* **13**, 1255-1260 (2011).
- [52] F. Hegeler and H. Akiyama, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **25**, 1158-1165 (1997).
- [53] R. Ono and T. Oda, *J. Appl. Phys.* **93**, 5876-5882 (2003).

- [54] S. Reuter, J. Winter, S. Iseni, S. Peters, A. Schmidt-Bleker, M. Duennbier, J. Schaefer, R. Foest, and K.D. Weltmann, *Plasma Sources Sci. Technol.* **21**, 034015 (10pp) (2012).
- [55] A.M. Bass, A.E. Ledford, and A.H. Laufer, *J. Res. Natl. Bur. Stand.* **80A**, 143-166 (1976).
- [56] R. Atkinson, D.L. Baulch, R.A. Cox, J.N. Crowley, R.F. Hampson, R.G. Hynes, M.E. Jenkin, M.J. Rossi, and J. Troe, *Atmos. Chem. Phys.* **4**, 1461-1738 (2004).
- [57] K. Bogumil, J. Orphal, T. Homann, S. Voigt, P. Spietz, O.C. Fleischmann, A. Vogel, M. Hartmann, H. Kromminga, H. Bovensmann, J. Frerick, and J.P. Burrows, *J. Photoch. Photobio. A* **157**, 167-184 (2003).
- [58] B. Eliasson, M. Hirth, and U. Kogelschatz, *J. Phys. D: Appl. Phys.* **20**, 1421-1437 (1987).
- [59] G. Valacchi, V. Fortino, and V. Bocci, *Br.J. Dermatol.* **153**, 1096-1100 (2005).

# Kapitel 6

## Diskussion

In diesem Kapitel werden die jeweiligen Erkenntnisse der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studien zusammengeführt und unter verschiedenen Aspekten für die klinische Anwendung diskutiert.

In einem Übersichtartikel zur Wundheilung kommt Dissemond zu dem Schluss, dass die gezielte Beeinflussung des pH-Wertes des Wundmilieus insbesondere für chronische Wunden einen optimierenden Faktor für die Wundtherapie darstellen kann [155]. Die Ergebnisse an artifiziellen Hydro-Lipid-Filmen aus den Untersuchungen in Kapitel 5.1 sowie ein weiterführender Einzelversuch an der gesunden Haut eines männlichen Probanden in [176] erlauben den Schluss, dass durch den Einsatz von Volumen-DBE-Plasmen das Wundmilieu signifikant in Richtung niedrigerer pH-Werte verschoben werden kann. Damit stellt ein Therapieplan mit plasmatechnologischen Elementen für bestimmte Phasen der Wundheilung vorteilhafte und heilungsfördernde Effekte in Aussicht.

Auch wenn große Unterschiede zwischen den experimentellen Bedingungen der Untersuchungen im Kapitel 5.2 und einer Arbeit von Ikawa *et al.* bestehen, sind dennoch die Erkenntnisse hinsichtlich der Inaktivierungsmechanismen bei der Plasmaexposition vergleichbar. Die Autoren testeten in [177] die bakterizide Wirkung einer wässrigen Lösung, in der sich durch die Plasmaexposition reaktive Sauerstoffspezies bildeten und pH-Veränderung einstellten. Die Zellen selbst kamen niemals in direkten Kontakt mit dem Plasma, sondern waren stets vom flüssigen Medium umschlossen. Lediglich die Oberfläche der Flüssigkeit wechselwirkte mit dem Effluent eines Helium-Plasma-Jets. Der pH-Wert von 4,7 stellte sich als Schwellwert heraus, unterhalb des-

sen es zur effektiven Inaktivierung *Escherichia coli* und *Leuconostoc citreum* kam. Die Autoren stellten anhand des Schwellwertes eine Verbindung mit dem pH-abhängigen Reaktionsgleichgewichtes zwischen dem Superoxid-Anion  $O_2^-$  und dem Hydroperoxid-Radikal  $HOO\cdot$  her.

Mit Blick auf den klinischen Einsatz der Plasmatechnologie sei an dieser Stelle angemerkt, dass es Hinweise darauf gibt, dass Bakterien in chronischen Wunden gegenüber akuten Wunden häufiger als Biofilme existieren, wodurch sie sich gegen äußere Einflüsse schützen können [178]. Bisher hat die Plasmaexposition von Biofilmen unter Verwendung unterschiedlicher Plasmaquellen stets eine signifikant geringere Inaktivierungseffizienz als bei vegetativen Zellen aufgewiesen [163, 106, 179]. Dass sich die in vitro-Effizienzen nicht einfach auf die klinische Anwendung übertragen lassen werden, erscheint angesichts der in-vivo-Ergebnisse von Isbary *et al.* in [134, 135] und Daeschlein *et al.* in [126] sowie der komparativen in vitro-Studie von Kim *et al.* in [180] mehr als wahrscheinlich. Nichtsdestotrotz weist die nicht-thermische Plasmatechnologie für antiseptische Maßnahmen ein signifikantes Wirkpotential auf. Nach derzeitigem Kenntnisstand tragen verschiedene Mechanismen gleichzeitig zur Inaktivierung der Mikroorganismen bei. Da dies eine besondere Herausforderung für die mikrobielle Resistenzbildung zur Folge haben sollte, erscheint der klinische Einsatz geeigneter Plasmaquellen besonders vielversprechend und zukunftsorientiert. Die im Kapitel 5.3 nachgewiesene antimikrobielle Wirksamkeit der Volumen-DBE bei unterschiedlichen und teilweise mit Resistenzen gegenüber einigen Antibiotika ausgestatteten Haut-Pathogenen flankiert diese Aussage. Als ein Parameter, der sich auf die antimikrobielle Effizienz auswirkt, konnte die Pulslänge der DBE-Versorgungsspannung identifiziert werden. Eine Erhöhung der Flankensteilheit verspricht dabei eine Steigerung der Effizienz. Durch die hochfrequenten Signale steigt jedoch unweigerlich auch die elektromagnetische Emission. Auf technischer Ebene hat dies enorme Herausforderungen bei der normgerechten Entwicklung medizinischer Plasmaquellen hinsichtlich der elektromagnetischen Verträglichkeit (EMV) zur Folge.

Durch geeignete Betriebsparameter lassen sich mit Hilfe der Luft-Volumen-DBE Atmosphärendruckplasmen erzeugen, die hinsichtlich der elektrischen Betriebssicherheit, der thermischen Einflüsse, der Strahlungsemission sowie unter bestimmten Randbedingungen der Ozonkonzentration keine Gefährdung für Therapeut und Patient darstellen. Die im Rahmen der Studie in Kapitel 5.4 lediglich abgeschätzten Werte für das Absinken der Ozonkonzentration unterhalb des Grenzwertes konnte mittlerweile experimentell unter Verwendung unterschiedlicher Messmethodiken bestätigt werden (noch nicht veröffentlichte Daten des Fraunhofer-Anwendungszentrums für Plasma und

Photonik). Ab einem relativen Abstand von 7 cm zu den Macor-Elektroden beträgt die Ozonkonzentration  $< 0,1$  ppm, obwohl direkt im Plasmavolumen Konzentrationen von einigen 100 ppm vorherrschen.

Angesichts der im Rahmen dieser Arbeit erzielten Ergebnisse und unter Einbeziehung der Erkenntnisse aus dem aktuellen Stand der Forschung erscheint die Volumen-DBE als potente, sichere und bislang nebenwirkungsfreie technologische Option bei der Therapie von Dermatosen. Durch entsprechende konstruktive Ausführungen und eine geeignete elektrische Parametrierung kann die Volumen-DBE auf Prozessparameter eingestellt werden, die therapeutisch nutzbare Effekte herbeiführen, ohne dabei den Patienten oder den Therapeuten durch elektrische, thermische, radiative oder chemische Einflüsse unmittelbar zu gefährden. Eine innovative Therapie unter Verwendung von direkt auf der Haut angewendeten Plasmaquellen nach dem Prinzip der Volumen-DBE in Luft sollte demnach bei allen Hauterkrankungen einen hohen potenziellen Nutzen zeigen, bei denen die mikrobielle Besiedlung der Haut ursächlich für Symptome, Komplikationen oder sogar eine verlangsamte Wundheilung ist. Bei Indikationen wie dem Ulcus venosum, dem Ulcus cruris oder Dekubitus (Druckgeschwür) sowie dem atopischen Ekzem (Neurodermitis) und der Psoriasis (Schuppenflechte) verspricht nach derzeitigem Kenntnisstand die Implementierung eines plasmatechnologischen Elementes in den Therapieplan durch vielfältige Stimuli eine Steigerung des Therapieerfolgs.

# Kapitel 7

## Ausblick

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Studien belegen, dass durch eine geeignete Parametrierung der Luft-Volumen-DBE Atmosphärendruckplasmen erzeugt werden können, die für die Anwendung in der Dermatologie therapeutisch relevante Effekte aufweisen, ohne dabei eine Gefährdung für den Anwender und den Patienten darzustellen. Diese Erkenntnisse flossen in Teilen in die Risiko-Nutzen-Analyse für die weltweit erste klinische Prüfung einer Volumen-DBE ein, im Rahmen derer in vivo die Anwendungssicherheit für Therapeut und Patient sowie eine gute Verträglichkeit an der Haut belegt wurde. Erste klinische Prüfungen unter Verwendung von technologisch verwandten Argon-Plasma-Jets wiesen ebenfalls die Verträglichkeit und Sicherheit der Plasmaanwendung am Patienten nach.

Strategisch ebnet sich damit der Weg für die translatorische Forschung, also die Überführung von Erkenntnissen der Grundlagenforschung in klinisch anwendbare Behandlungsschemata. In dieser entscheidenden Phase der plasmamedizinischen Forschung kann in umfangreichen klinischen Prüfungen die Wirkung und Wirksamkeit der Volumen-DBE in der klinischen Dermatologie systematisch und indikationsspezifisch erforscht werden. Von besonderem Interesse wird hierbei die technische aber auch parametrische Modifikation bestehender Plasmaquellen für das jeweilige Krankheitsbild sein.

# Kapitel 8

## Literaturverzeichnis

- [1] LANGMUIR, I.: Oszillations in ionized gases. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 14 (1928), 627-637. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1085653/pdf/pnas01820-0029.pdf> 2
- [2] ARDENNE, Manfred von ; MUSIOL, Gerhard ; KLEMRADT, Uwe: *Effekte der Physik und ihre Anwendung*. Bd. 3. 1. Frankfurt : Wissenschaftlicher Verlag Harri Deutsch, 2005. – 1253 S. [http://www.harri-deutsch.de/verlag/titel/ardennem/s\\_1682.htm](http://www.harri-deutsch.de/verlag/titel/ardennem/s_1682.htm) 2, 2.1.2, 2.3
- [3] MEICHSNER, J.: *Introduction to Low-temperature Plasma Physics*. Ergänzende Materialien zum Teil-Modul Niedertemperatur-Plasmaphysik (2008), Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, aufgerufen am 06.09.2012. <http://www1.physik.uni-greifswald.de/> 2.1
- [4] FRIDMAN, Alexander: *Plasma Chemistry*. Bd. 1. New York : Cambridge University Press, 2008. – 978 S. <http://www.cambridge.org/us/catalogue/catalogue.asp?isbn=9780521847353> 2.1, 2.1.2, 2, 2.1.3, 2.2, 2.3.1, 2.3.2, 2.3.2, 2.4, 3
- [5] KOSSYI, I. A. ; YU KOSTINSKY, A. ; MATVEYEV, A. A. ; SILAKOV, V. P.: Kinetic scheme of the non-equilibrium discharge in nitrogen-oxygen mixtures. In: *Plasma Sources Science and Technology* 1 (1992), Nr. 3, S. 207–220. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/1/3/011>. – DOI 10.1088/0963-0252/1/3/011 2.1
- [6] EICHWALD, O. ; YOUSFI, M. ; HENNAD, A. ; BENABDESSADOK, M. D.: Coupling of chemical kinetics, gas dynamics, and charged par-

- title kinetics models for the analysis of NO reduction from flue gases. In: *Journal of Applied Physics* 82 (1997), Nr. 10, S. 4781–4794. <http://dx.doi.org/10.1063/1.366336>. – DOI 10.1063/1.366336. – ISSN 0021–8979 2.1
- [7] EICHWALD, O. ; GUNTORO, N. A. ; YOUSFI, M. ; BENHENNI, M.: Chemical kinetics with electrical and gas dynamics modelization for NO<sub>x</sub> removal in an air corona discharge. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 35 (2002), Nr. 5, S. 439–450. <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/35/5/305>. – DOI 10.1088/0022-3727/35/5/305 2.1
- [8] KLEIN, M.: *Barrierenentladung zur Erstickung motorischer Abgase*, Universität Fridericiana Karlsruhe, Dissertation, 1995. [http://sylvester.bth.rwth-aachen.de/dissertationen/2001/067/01\\_067.pdf](http://sylvester.bth.rwth-aachen.de/dissertationen/2001/067/01_067.pdf) 2.2
- [9] SAKIYAMA, Y.: *Minicourse Low temperature Plasma Modelling and Simulation and Applications*. Vortrag auf der 37th International Conference on Plasma Science, Norfolk, USA (20.-24. Juni). [http://graves-lab.cchem.berkeley.edu/upload/ICOPS\\_minicourse\\_Yuki.pdf](http://graves-lab.cchem.berkeley.edu/upload/ICOPS_minicourse_Yuki.pdf). Version: 2010 2.1
- [10] FRIDMAN, Alexander ; KENNEDY, Lawrence A.: *Plasma Physics and Engineering*. Bd. 1. New York : Taylor & Francis Books, Inc., 2004. – 853 S. <http://www.cambridge.org/us/catalogue/catalogue.asp?isbn=9780521847353> 2.1, 2.1.1, 2.1.2
- [11] BOULOS, Maher I. ; FAUCHAIS, Pierre ; PFENDER, Emil: *Thermal plasmas: Fundamentals and Applications*. Bd. 1. New York : Plenum Press, 1995. – 468 S. 2.1.2
- [12] KEUDELL, A. von: *Einführung in die Plasmaphysik*. Vorlesungsskript SS 2006, Ruhr-Universität Bochum, aufgerufen am 17.04.2013. <http://reaktiveplasmen.rub.de/files/skripten/skriptPP2.pdf> 2.1.2
- [13] VIÖL, W.: *Plasmatechnologie*. Vorlesungsskript SS 2013, Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst, Göttingen. [www.hawk-hhg.de](http://www.hawk-hhg.de) 2.1.2
- [14] AWAKOWICZ, P.: *Plasmatechnik I*. Vorlesungsskript WS 2010/11, Ruhr-Universität Bochum, aufgerufen am 17.04.2013. <http://reaktiveplasmen.rub.de/files/skripten/skriptPP2.pdf> 2.1.2



- 
- [15] FLESCHE, Peter: *Light and Light Sources: High-Intensity Discharge Lamps*. Bd. 1. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 2006. – 344 S. <http://www.springer.com/physics/> 2.1.2, 2.1.2, 2.1.2, 2.1.3
- [16] GRIEM, H. R.: Validity of Local Thermal Equilibrium in Plasma Spectroscopy. In: *Physical Review* 131 (1963), 1170-1176. <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRev.131.1170>. – DOI 10.1103/PhysRev.131.1170 2.1.2
- [17] NUMANO, M.: Criteria for local thermodynamic equilibrium distributions of populations of excited atoms in a plasma. In: *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer* 43 (1990), Nr. 4, S. 311–317. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-4073\(90\)90020-7](http://dx.doi.org/10.1016/0022-4073(90)90020-7). – DOI 10.1016/0022-4073(90)90020-7 2.1.2
- [18] FUJIMOTO, T. ; MCWHIRTER, R. W. P.: Validity criteria for local thermodynamic equilibrium in plasma spectroscopy. In: *Physical Review A* 42 (1990), 6588-6601. <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevA.42.6588>. – DOI 10.1103/PhysRevA.42.6588 2.1.2
- [19] HEBERLEIN, J.: *High Pressure Thermal Plasmas and Sources*. Vortrag auf der 12th European Summer School: Low Temperature Plasma Physics: Basics and Applications, Bad Honnef, Germany (6.-11. Oktober), 2007 2.3
- [20] BRAITHWAITE, N. St. J.: Introduction to gas discharges. In: *Plasma Sources Science and Technology* 9 (2000), Nr. 4, S. 517–527. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/9/4/307>. – DOI 10.1088/0963-0252/9/4/307 2.1.3
- [21] PENNING, F. M.: Über Ionisation durch metastabile Atome. In: *Naturwissenschaften* 15 (1927), Nr. 40, S. 818. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01505431>. – DOI 10.1007/BF01505431 2.1.3
- [22] SCHÄFER, Clemens ; BERGMANN, Ludwig ; KLEINERMANN, Karl (Hrsg.): *Lehrbuch der Experimentalphysik, Band 5, Gase Nanosysteme Flüssigkeiten*. 2. Berlin : Walter De Gruyter Inc., 2006. – 1105 S. <http://www.degruyter.com/viewbooktoc/product/36603;jsessionid=9A5E517D3DDB802D30F4C203BF39CD68> 2.1.3, 2.3.1, 2.3.2, 2.3.3, 2.4, 2.4, 2.4
- [23] ITIKAWA, Y.: Cross Sections for Electron Collisions with Nitrogen Molecules. In: *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 35

- (2005), Nr. 1, 31-53. <http://dx.doi.org/10.1063/1.1937426>. – DOI 10.1063/1.1937426 2.4
- [24] ITIKAWA, Y. ; ICHIMURA, A. ; ONDA, K. ; SAKIMOTO, K. ; TAKAYANAGI, K. ; HATANO, Y. ; HAYASHI, M. ; NISHIMURA, H. ; TSURUBUCHI, S.: Cross Sections for Collisions of Electrons and Photons with Oxygen Molecules. In: *Journal of Physical and Chemical Reference Data* 18 (1989), Nr. 1, 23-42. <http://dx.doi.org/10.1063/1.555841>. – DOI 10.1063/1.555841 2.5
- [25] ELIASSON, B. ; KOGELSCHATZ, U.: Modeling and Applications of Silent Discharge Plasmas. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 19 (1991), Nr. 2, S. 309–323. <http://dx.doi.org/10.1109/27.106829>. – DOI 10.1109/27.106829 2.1.3
- [26] RÜCKAUF, A.: *Zur Entladungscharakteristik und Stoffwandlung im nichtthermischen Plasma des ferroelektrischen Schuettungsreaktors*, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Dissertation, 2002. <http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/diss-online/02/02H124/> 2.1.3, 2.4
- [27] HAGELAAR, G. J. M. ; PITCHFORD, L. C.: Solving the Boltzmann equation to obtain electron transport coefficients and rate coefficients for fluid models. In: *Plasma Sources Science and Technology* 14 (2005), Nr. 4, S. 722–733. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/14/4/011>. – DOI 10.1088/0963-0252/14/4/011 2.1.3, 2.1.3
- [28] DETLEF SCHULZ, Wilfried P. (Hrsg.): *Handbuch Elektrotechnik: Grundlagen und Anwendungen für Elektrotechniker*. Bd. 5. Wiesbaden : Vieweg + Teubner, 2009. – 1143 S. <http://www.springer.com/springer+vieweg/> 2.1.3
- [29] PENETRANTE, B. M. ; HSIAO, M. C. ; BARDSLEY, J. N. ; MERRITT, B. T. ; VOGTLIN, G. E. ; KUTHI, A. ; BURKHART, C. P. ; BAYLESS, J. R.: Identification of mechanisms for decomposition of air pollutants by non-thermal plasma processing. In: *Plasma Sources Science and Technology* 6 (1997), Nr. 3, S. 251–259. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/6/3/002>. – DOI 10.1088/0963-0252/6/3/002 2.8
- [30] DEMTRÖDER, Wolfgang: *Experimentalphysik 2, Elektrizität und Optik*. 4. Berlin Heidelberg New York : Springer-Verlag, 2007. – 510 S. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-10592-0>. <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-10592-0> 2.2, 2.3, 2.13, 2.3.1

- [31] LIEBERMANN, Michael A. ; LICHTENBERG, Allan J.: *Principles of Plasma Discharges and Materials Processing, 2. Edition*. 2. New Jersey : John Wiley & Sons, Inc., 2005. – 757 S. <http://onlinelibrary.wiley.com/book/10.1002/0471724254> 2.2
- [32] LOFFHAGEN, D.: *Technologische Plasmen: Modellierung*. Ergänzende Materialien zum Vorlesungsskript Technologische Plasmen (2008), Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, aufgerufen am 06.09.2012. <http://www1.physik.uni-greifswald.de/> 2.9
- [33] KÜCHLER, Andreas: *Hochspannungstechnik*. Bd. 3. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 2009. – 607 S. <http://www.springer.com/engineering/energy+technology/book/978-3-540-78412-8> 2.3, 2.10, 2.3.1, 3, 2.3.1, 2.3.1, 2.3.1, 2.3.1, 2.14, 2.3.1, 2.3.2, 2.3.2, 5, 2.15, 2.3.2, 2.3.2, 2.16, 2.3.2, 2.3.2, 2.17, 2.3.2, 2.18, 2.3.3, 2.19, 2.3.3
- [34] RAIZER, Yuri P.: *Gas Discharge Physics*. Bd. 2. Berlin : Springer-Verlag, 1997. – 449 S. <http://www.springer.com/physics/> 2.3, 4, 2.3.3
- [35] HERING, E. ; MARTIN, R. ; STOHRER, M.: *Physik für Ingenieure*. Bd. 11. Heidelberg Dordrecht London New York : Springer-Verlag, 2012. – 1006 S. <http://www.springer.com/engineering/book/978-3-540-71855-0> 2.3.1
- [36] KEUDELL, A. von: *Einführung in die Plasmaphysik II: Niedertemperaturplasmen*. Vorlesungsskript WS 2010/11, Ruhr-Universität Bochum, aufgerufen am 17.04.2013. <http://reaktiveplasmen.rub.de/files/skripten/skriptPP2.pdf> 4, 2.3.1
- [37] PASCHEN, F.: Über die zum Funkenübergang in Luft, Wasserstoff und Kohlensäure bei verschiedenen Drücken erforderliche Potentialdifferenz. In: *Annalen der Physik* 273 (1889), Nr. 5, 69-96. <http://dx.doi.org/10.1002/andp.18892730505> 2.3.1
- [38] MESCHÉDE, Dieter: *Gerthsen Physik*. Bd. 24. Berlin Heidelberg New York : Springer-Verlag, 2010. – 1048 S. 2.3.1, 2.14, 2.3.1
- [39] SLEZIONA, C.: *Plasmaströmungen für Raumfahrtanwendungen*. Vorlesungsskript des Instituts für Raumfahrtsysteme der Universität Stuttgart zum WS04/05, aufgerufen am 08.05.2013. [http://www.irs.uni-stuttgart.de/skript/PLASMA/PLASMA\\_WS0405\\_www.pdf](http://www.irs.uni-stuttgart.de/skript/PLASMA/PLASMA_WS0405_www.pdf) 2.3.1

- [40] STARIKOVSKAIA, S. M. ; ANIKIN, N. B. ; PANCHESHNYI, S. V. ; ZATSEPIN, D. V. ; STARIKOVSKII, A. Y.: Pulsed breakdown at high over-voltage: development, propagation and energy branching. In: *Plasma Sources Science and Technology* 10 (2001), Nr. 2, S. 344–355. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/10/2/324>. – DOI 10.1088/0963-0252/10/2/324 2.3.3, 2.20, 2.3.3, 5.3
- [41] KIND, Dieter ; KÄRNER, Hermann: *Hochspannungsisoliertechnik*. Braunschweig : Vieweg, 1982. – 197 S. 2.3.3
- [42] KOROLEV, Y. D. ; MESYATS, G. A.: *Physics of Pulsed Breakdown in Gases*. 1. Ekaterinburg : URO-Press, 1998. – 274 S. <http://search.library.wisc.edu/catalog/ocm40224148> 2.3.3, 2.3.3
- [43] VASILYAK, L. M. ; KOSTYUCHENKO, S. V. ; KUDRYAVTSEV, N. N. ; FILYUGIN, I. V.: Fast ionisation waves under electrical breakdown conditions. In: *Physics-Uspekhi* 37 (1994), Nr. 3, S. 247. <http://dx.doi.org/10.1070/PU1994v037n03ABEH000011>. – DOI 10.1070/PU1994v037n03ABEH000011 2.3.3
- [44] TAKASHIMA, K. ; ADAMOVICH, I. V. ; XIONG, Z. ; KUSHNER, M. J. ; STARIKOVSKAIA, S. ; CZARNETZKI, U. ; LUGGENHOLSCHER, D.: Experimental and modeling analysis of fast ionization wave discharge propagation in a rectangular geometry. In: *Physics of Plasmas* 18 (2011), Nr. 8, 083505. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3619810>. – DOI 10.1063/1.3619810 2.3.3
- [45] TARASENKO, V.F. ; KOSTYRYA, I.D. ; PETIN, V.K. ; SHLYAKHTUN, S.V.: Beam electron energy distribution at a volume nanosecond discharge in atmospheric-pressure air. In: *Technical Physics* 51 (2006), 1576–1585. <http://dx.doi.org/10.1134/S1063784206120048>. – DOI 10.1134/S1063784206120048 2.3.3
- [46] SHAO, T. ; ZHANG, C. ; NIU, Z. ; YAN, P. ; TARASENKO, V. F. ; BAKSHT, E. K. ; KOSTYRYA, I. D. ; SHUTKO, V.: Runaway electron preionized diffuse discharges in atmospheric pressure air with a point-to-plane gap in repetitive pulsed mode. In: *Journal of Applied Physics* 109 (2011), Nr. 8, S. 083306(7pp). <http://dx.doi.org/10.1063/1.3581066>. – DOI 10.1063/1.3581066 2.3.3
- [47] MESYATS, G. A. ; YALANDIN, M. I.: On the Nature of Picosecond Runaway Electron Beams in Air. In: *IEEE Transactions on Plasma*

- Science* 37 (2009), S. 785–789. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2009.2012428>. – DOI 10.1109/TPS.2009.2012428 2.3.3
- [48] LEVKO, D. ; YATOM, S. ; VEKSELMAN, V. ; GLEIZER, J. Z. ; GUROVICH, V. T. ; KRASIK, Ya. E.: Numerical simulations of runaway electron generation in pressurized gases. In: *Journal of Applied Physics* 111 (2012), Nr. 1, 013303(9pp). <http://dx.doi.org/10.1063/1.3675527>. – DOI 10.1063/1.3675527 2.3.3
- [49] QI, B. ; REN, C. ; WANG, D. ; LI, S.-Z. ; WANG, K. ; ZHANG, Y.: Uniform glowlike plasma source assisted by preionization of spark in ambient air at atmospheric pressure. In: *Applied Physics Letters* 89 (2006), Nr. 13, S. 131503–131503–3. <http://dx.doi.org/10.1063/1.2356894>. – DOI 10.1063/1.2356894 2.3.3, 5.3
- [50] ZHANG, Y. ; GU, B. ; WANG, W. ; WANG, D. ; PENG, X.: Experimental investigation on large-area dielectric barrier discharge in atmospheric nitrogen and air assisted by the ultraviolet lamp. In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 72 (2009), Nr. 3, 460–464. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2008.10.003>. – DOI 10.1016/j.saa.2008.10.003 2.3.3
- [51] SIEMENS, W. von: Ozone Production in an Atmospheric-Pressure Dielectric Barrier Discharge. In: *Poggendorf's Annalen der Chemie und der Physik* 102 (1857), Nr. 66, 66–122. <http://gallica.bnf.fr/ark:/12148/bpt6k15187j.langDE> 2.4
- [52] PIETSCH, G. J. ; BRAUN, D. ; GIBALOV, V. I.: *Modeling of dielectric barrier discharges*. NATO ASI Series Vol. G34, Part A, 1993 2.4
- [53] STEINLE, G. ; NEUNDORF, D. ; HILLER, W. ; PIETRALLA, M.: Two-dimensional simulation of filaments in barrier discharges. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 32 (1999), Nr. 12, S. 1350. <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/32/12/311>. – DOI 10.1088/0022-3727/32/12/311 2.4, 2.24
- [54] POCHNER, K.: *Plasmachemische Prozesse mittels nichtthermischer Gasentladungen bei Atmosphärendruck*, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, Fakultät für Maschinenwesen, Dissertation, 1999. <http://publica.fraunhofer.de/dokumente/B-63297.html> 2.4
- [55] KOGELSCHATZ, U.: Dielectric-Barrier Discharges: Their History, Discharge Physics, and Industrial Applications. In: *Plasma Chemistry*

- and Plasma Processing* 23 (2003), Nr. 1, 1-46. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1022470901385> 2.4
- [56] TECHNOLOGIEZENTRUM, VDI: *Evaluierung Plasmatechnik*. Evaluierungsbericht im Auftrag des Bundesministeriums für Bildung und Forschung. [www.techportal.de](http://www.techportal.de). Version: 2004 2.4
- [57] BUSS, K.: Die elektrodenlose Entladung nach Messung mit dem Kathodenszillographen. In: *Archiv für Elektrotechnik* 26 (1932), Nr. 4, 261-265. <http://link.springer.com/> 2.4
- [58] GUIKEMA, J. ; MILLER, N. ; NIEHOF, J. ; KLEIN, M. ; WALHOUT, M.: Spontaneous Pattern Formation in an Effectively One-Dimensional Dielectric-Barrier Discharge System. In: *Physical Review Letters* 85 (2000), 3817-3820. <http://dx.doi.org/10.1103/PhysRevLett.85.3817>. – DOI 10.1103/PhysRevLett.85.3817 2.25
- [59] KOGELSCHATZ, U.: Filamentary, patterned, and diffuse barrier discharges. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 30 (2002), Nr. 4, S. 1400–1408. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2002.804201>. – DOI 10.1109/TPS.2002.804201 2.25
- [60] KOGELSCHATZ, U.: *Fundamentals and applications of dielectric barrier discharges*. Proceedings of the 7th International Symposium on High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry (HAKONE), Greifswald, Germany. <http://www.coronalab.net/wxzl/plasma-16.pdf>. Version: September 10-13 2000 2.4, 2.2, 2.4
- [61] FROMMELT, T.: *Der Plasmajet als dielektrische Barriereentladung und Beschichtungsanlage*, Universität Augsburg, Institut für Physik, Lehrstuhl für Experimentalphysik IV, Diplomarbeit, 2003. [http://thomas-frommelt.de/data/Diplomarbeit\\_T\\_Frommelt.pdf](http://thomas-frommelt.de/data/Diplomarbeit_T_Frommelt.pdf) 2.4
- [62] SAMOILOVICH, Vadim G. ; GIBALOV, Valentin I. ; KOZLOV, Kirill V.: *Physical Chemistry of the Barrier Discharge*. Bd. 2. Düsseldorf : DVS-Verlag, 1997. – 261 S. 2.2
- [63] HELMKE, A.: *Plasmamedizin...eine Einführung*. Vortrag beim Dermatologischen Nachmittag der Universitätsmedizin Göttingen (UMG), Dezember 2010 2.26
- [64] HELMKE, A. ; GRÜNIG, P. ; FRITZ, U.-M. ; WANDKE, D. ; EMMERT, S. ; PETERSEN, K. ; VIÖL, W.: Low temperature plasma - a prospective microbicidal tool. In: *Recent Patents on Anti-Infective Drug*

- Discovery* 7 (2012), Nr. 3, S. 223–230. <http://dx.doi.org/10.2174/157421222742396891X>. – DOI 10.2174/157421222742396891X. – ISSN 1612–8869 2.26
- [65] ZENKER, M.: Argon plasma coagulation. In: *GMS Krankenhaushygiene Interdisziplinär* 3 (2008), Nr. 1, 1-5. <http://www.egms.de/static/de/journals/dgkh/2008-3/dgkh000113.shtml> 3
- [66] GRUND, K. E. ; STOREK, D. ; FARIN, G.: Endoscopic argon plasma coagulation (APC) first clinical experiences in flexible endoscopy. In: *Endoscopic Surgery and Allied Technologies* 2 (1994), Nr. 1, 42-6. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8081915> 3
- [67] IANNELLI, A. ; BAFGHI, A. ; PATRONO, D. ; SAUTOT-VIAL, N. ; GUGENHEIM, J.: Use of PlasmaJet System in Patients Undergoing Abdominal Lipectomy following Massive Weight Loss Resulting from Bariatric Surgery: Early Experience. In: *Obesity Surgery* 16 (2006), 1504-1507. <http://dx.doi.org/10.1381/096089206778869979> 3
- [68] HOFFMANN, M. ; BRUCH, H.-P. ; KUJATH, P. ; LIMMER, S.: Cold-plasma coagulation in the treatment of malignant pleural mesothelioma: results of a combined approach. In: *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery* 10 (2010), Nr. 4, 502-505. <http://dx.doi.org/10.1510/icvts.2009.223768>. – DOI 10.1510/icvts.2009.223768 3
- [69] WOLOSZKO, J. ; STALDER, K. ; BROWN, I. G.: Plasma characteristics of repetitively-pulsed electrical discharges in saline solutions used for surgical procedures. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 30 (2002), Nr. 3, S. 1376–1383. <http://dx.doi.org/doi:10.2174/157421222742396891X>. – DOI doi: 10.2174/157421222742396891X. – ISSN 1612–8869 3
- [70] WIDMER, A. F.: Nosokomiale Infektionen und Spitalhygiene: Aktuelle Aspekte. In: *Swiss-Noso* 7 (2000), Nr. 4, 42-6. <http://www.chuv.ch/swiss-noso/vol7nu4d.pdf> 3
- [71] BEIGHTON, D. ; LYNCH, E. ; HEATH, M. R.: A Microbiological Study of Primary Root-carries Lesions with Different Treatment Needs. In: *Journal of Dental Research* 72 (1993), Nr. 3, 623-629. <http://dx.doi.org/10.1177/00220345930720031201>. – DOI 10.1177/00220345930720031201 3
- [72] DANG, C. N. ; ANWAR, R. ; THOMAS, G. ; PRASAD, Y. D. M. ; BOULTON, A. J. M. ; MALIK, R. A.: The Biogun. In: *Diabetes Care* 29

- (2006), Nr. 5, 1176. <http://dx.doi.org/10.2337/dc06-0178>. – DOI 10.2337/dc06-0178 3
- [73] BOGLE, M. A. ; ARNDT, K. A. ; DOVER, J. S.: Evaluation of Plasma Skin Regeneration Technology in Low-Energy Full-Facial Rejuvenation. In: *Archives of Dermatology* 143 (2007), 168-174. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17309997> 3
- [74] KILMER, S. ; SEMCHYSHYN, N. ; SHAH, G. ; FITZPATRICK, R.: A pilot study on the use of a plasma skin regeneration device (Portrait® PSR3) in full facial rejuvenation procedures. In: *Lasers in Medical Science* 22 (2007), S. 101–109. <http://dx.doi.org/10.1007/s10103-006-0431-9>. – DOI 10.1007/s10103-006-0431-9 3
- [75] HOLCOMB, J. D. ; KENT, K. J. ; ROUSSO, D. E.: Nitrogen Plasma Skin Regeneration and Aesthetic Facial Surgery. In: *Archives of Facial Plastic Surgery* 11 (2009), Nr. 3, 184-193. <http://dx.doi.org/10.1001/archfacial.2009.29>. – DOI 10.1001/archfacial.2009.29 3
- [76] SHEKHTER, A. B. ; KABISOV, R. K. ; PEKSHEV, A. V. ; KOZLOV, N. P. ; PEROV, Y. L.: Experimental and clinical validation of plasmadynamic therapy of wounds with nitric oxide. In: *Bulletin of Experimental Biology and Medicine* 126 (1998), Nr. 2, S. 829–834. <http://dx.doi.org/10.2174/157421222742396891X>. – DOI 10.2174/157421222742396891X 3
- [77] SHEKHTER, A. B. ; SEREZHENKOV, V. A. ; RUDENKO, T. G. ; PEKSHEV, A. V. ; VANIN, A. F.: Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds. In: *Nitric oxide: biology and chemistry* 12 (2005), Nr. 4, S. 210–219. <http://dx.doi.org/doi:10.2174/157421222742396891X>. – DOI doi: 10.2174/157421222742396891X. – ISSN 1612-8869 3
- [78] GRIGORIAN, A. S. ; GRUDIANOV, A. I. ; FROLOVA, O. A. ; ANTIPOVA, Z. P. ; EROKHIN, A. I. ; SHEKHTER, A. B. ; PEKSHEV, A. V.: Use of a new biological factor - exogenic nitric oxide - during surgical treatment of periodontitis. In: *Stomatologia (Mosk.)* 80 (1998), Nr. 1, S. 80–83. <http://dx.doi.org/10.2174/157421222742396891X>. – DOI 10.2174/157421222742396891X 3
- [79] MOISAN, M. ; BARBEAU, J. ; MOREAU, S. ; PELLETIER, J. ; TABRIZIAN, M. ; YAHIA, L'H.: Low-temperature sterilization using gas plasmas:



- a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms. In: *International Journal of Pharmaceutics* 226 (2001), Nr. 1-2, S. 1–21. [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00752-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00752-9). – DOI 10.1016/S0378-5173(01)00752-9. – ISSN 0378-5173 4
- [80] HALFMANN, H. ; DENIS, B. ; BIBINOV, N. ; WUNDERLICH, J. ; AWAKOWICZ, P.: Identification of the most efficient VUV/UV radiation for plasma based inactivation of *Bacillus atrophaeus* spores. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 40 (2007), Nr. 19, S. 5907. <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/40/19/019>. – DOI 10.1088/0022-3727/40/19/019 4
- [81] LAROUCSI, M. ; FRIDMAN, A. ; SATAVA, R. M.: Plasma Medicine. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 6, 501-502. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ppap.200800094/pdf> 4
- [82] FRIDMAN, G. ; FRIEDMAN, G. ; GUTSOL, A. ; SHEKHTER, A. B. ; VASILETS, V. N. ; FRIDMAN, A.: Applied Plasma Medicine. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 6, S. 503–533. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200700154>. – DOI 10.1002/ppap.200700154 4, 4
- [83] WELTMANN, K.-D. ; KINDEL, E. ; WOEDTKE, T. von ; HÄHNEL, M. ; STIEBER, M. ; BRANDENBURG, R.: Atmospheric-pressure plasma sources: Prospective tools for plasma medicine. In: *Pure and Applied Chemistry* 82 (2010), Nr. 6, S. 1223–1237. <http://dx.doi.org/10.1351/PAC-CON-09-10-35>. – DOI 10.1351/PAC-CON-09-10-35 4
- [84] MONTIE, T. C. ; KELLY-WINTERBERG, K. ; ROTH, J. R.: An overview of research using the one atmosphere uniform glowdischarge plasma (OAUGDP) for sterilization of surfaces and materials. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 21 (2000), S. 41–50. <http://dx.doi.org/10.1109/27.842860>. – DOI 10.1109/27.842860 4, 5.2, 5.3
- [85] LAROUCSI, M.: Sterilization of contaminated matter with an atmospheric pressure plasma. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 24 (1996), Nr. 3, 1188-1191. <http://dx.doi.org/10.1109/27.533129>. – DOI 10.1109/27.533129 4
- [86] LAROUCSI, M. ; LU, X.: Room-temperature atmospheric pressure plasma plume for biomedical applications. In: *Applied Physics Letters* 87 (2005), Nr. 11, S. 113902. <http://dx.doi.org/10.1063/1.2045549>. – DOI 10.1063/1.2045549 4

- [87] LAROUCSI, M.: Nonthermal Decontamination of Biological Media by Atmospheric-Pressure Plasmas: Review, Analysis and Prospects. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 30 (2002), Nr. 4, S. 1409–1415. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2002.804220>. – DOI 10.1109/TPS.2002.804220 4, 5.2
- [88] LAROUCSI, M. ; MENDIS, D. A. ; ROSENBERG, M.: Plasma interaction with microbes. In: *New Journal of Physics* 5 (2003), S. 41(10pp). <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/5/1/341>. – DOI 10.1088/1367-2630/5/1/341 4
- [89] LAROUCSI, M. ; LEIPOLD, F.: Evaluation of the roles of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure. In: *International Journal of Mass Spectrometry* 233 (2004), Nr. 1-3, S. 81 – 86. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijms.2003.11.016>. – DOI 10.1016/j.ijms.2003.11.016. – ISSN 1387–3806 4, 5.2
- [90] LAROUCSI, M.: Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the-Art. In: *Plasma Processes and Polymers* 2 (2005), Nr. 5, S. 391–400. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200400078>. – DOI 10.1002/ppap.200400078 4, 5.2
- [91] BAREKZI, N. ; LAROUCSI, M.: Dose-dependent killing of leukemia cells by low-temperature plasma. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 45 (2012), Nr. 42, S. 422002. <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/45/42/422002>. – DOI 10.1088/0022-3727/45/42/422002 4
- [92] STOFFELS, E. ; FLIKWEERT, A. J. ; STOFFELS, W. W. ; KROESEN, G. M. W.: Plasma needle: a non-destructive atmospheric plasma source for fine surface treatment of (bio)materials. In: *Plasma Sources Science and Technology* 11 (2002), Nr. 4, S. 383–388. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/11/4/304>. – DOI 10.1088/0963-0252/11/4/304 4
- [93] STOFFELS, E. ; GONZALVO, Y. A. ; WHITMORE, T. D. ; SEYMOUR, D. L. ; REES, J. A.: A plasma needle generates nitric oxide. In: *Plasma Sources Science and Technology* 15 (2006), Nr. 3, S. 501–506. <http://dx.doi.org/10.1088/0963-0252/15/3/028>. – DOI 10.1088/0963-0252/15/3/028 4
- [94] STOFFELS, E. ; SLADEK, R. E. J. ; KIEFT, I. E.: Gas plasma effects on living cells. In: *Physica Scripta* 107 (2004), S. 79–82.

- <http://dx.doi.org/10.1238/Physica.Topical.107a00079>. – DOI 10.1238/Physica.Topical.107a00079 4
- [95] STOFFELS, E. ; SAKIYAMA, Y. ; GRAVES, D. B.: Cold Atmospheric Plasma: Charged Species and Their Interactions With Cells and Tissues. In: *Transactions on Plasma Science* 36 (2008), Nr. 4, S. 1441–1457. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2008.2001084>. – DOI 10.1109/TPS.2008.2001084 4
- [96] STOFFELS, E. ; ROKS, A. J. M. ; DEELMAN, L. E.: Delayed Effects of Cold Atmospheric Plasma on Vascular Cells. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 6, S. 599–605. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200800028>. – DOI 10.1002/ppap.200800028 4
- [97] BROK, W. J. M. ; BOWDEN, M. D. ; DIJK, J. van ; MULLEN, J. J. A. M. d. ; KROESEN, G. M. W.: Numerical description of discharge characteristics of the plasma needle. In: *Journal of Applied Physics* 98 (2005), Nr. 1, 013302. <http://dx.doi.org/10.1063/1.1944218>. – DOI 10.1063/1.1944218 4
- [98] KAEMLING, C. ; KAEMLING, A. ; TÜMMEL, S. ; VIÖL, W.: Plasma treatment on finger nails prior to coating with a varnish. In: *Surface and Coatings Technology* 200 (2005), Nr. 1-4, S. 668 – 671. <http://dx.doi.org/10.1016/j.surfcoat.2005.01.065>. – DOI 10.1016/j.surfcoat.2005.01.065. – PSE 2004 4
- [99] TÜMMEL, S. ; MERTENS, N. ; WANG, J. ; VIÖL, W.: Low Temperature Plasma Treatment of Living Human Cells. In: *Plasma Processes and Polymers* 4 (2007), Nr. S1, S. 465–469. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200731208>. – DOI 10.1002/ppap.200731208 4
- [100] FRIDMAN, G. ; PEDDINGHAUS, L. ; VINOVRSKI, T. ; JAH, A. ; FRIDMAN, A. ; BALASUBRAMANIAN, M. ; GUTSOL, A. ; FRIEDMAN, G.: *Use of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Discharge for Coagulation and Sterilization of Surface Wounds*. 32nd IEEE International Conference on Plasma Science, Monterey, USA (20.-23. Juni). <http://ieeexplore.ieee.org/xpl/mostRecentIssue.jsp?punumber=4198267>. Version: 2005 4
- [101] FRIDMAN, G. ; PEDDINGHAUS, M. ; BALASUBRAMANIAN, M. ; AYAN, H. ; FRIDMAN, A. ; GUTSOL, A. ; BROOKS, A.: Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric

- Barrier Discharge in Air. In: *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 26 (2006), Nr. 4, S. 425–442. <http://dx.doi.org/10.1007/s11090-006-9024-4>. – DOI 10.1007/s11090-006-9024-4 4
- [102] KALGHATGI, S. U. ; FRIDMAN, G. ; COOPER, M. ; NAGARAJ, G. ; PEDDINGHAUS, M. ; BALASUBRAMANIAN, M. ; VASILETS, V. N. ; GUTSOL, A. F. ; FRIDMAN, A. ; FRIEDMAN, G.: Mechanism of Blood Coagulation by Nonthermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge Plasma. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 35 (2007), Nr. 5, S. 1559–1566. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2007.905953>. – DOI 10.1109/TPS.2007.905953 4
- [103] FRIDMAN, G. ; BROOKS, A. D. ; BALASUBRAMANIAN, M. ; FRIDMAN, A. ; GUTSOL, A. ; VASILETS, V. N. ; AYAN, H. ; FRIEDMAN, G.: Comparison of Direct and Indirect Effects of Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma on Bacteria. In: *Plasma Processes and Polymers* 4 (2007), Nr. 4, S. 370–375. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200600217>. – DOI 10.1002/ppap.200600217 4
- [104] GALLAGHER, M. J. ; VAZE, N. ; GANGOLI, S. ; VASILETS, V. N. ; GUTSOL, A. F. ; MILOVANOV, T. N. ; ANANDAN, S. ; MURASKO, D. M. ; FRIDMAN, A.: Rapid Inactivation of Airborne Bacteria Using Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Grating Discharge. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 35 (2007), Nr. 5, 1501–1510. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2007.905209>. – DOI 10.1109/TPS.2007.905209 4
- [105] COOPER, M. ; FRIDMAN, G. ; STAACK, D. ; GUTSOL, A. F. ; VASILETS, V. N. ; ANANDAN, S. ; CHO, Y. I. ; FRIDMAN, A. ; TSAPIN, A.: Decontamination of Surfaces From Extremophile Organisms Using Nonthermal Atmospheric-Pressure Plasmas. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 37 (2009), Nr. 6, 866–871. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2008.2010618>. – DOI 10.1109/TPS.2008.2010618 4
- [106] JOSHI, S. G. ; PAFF, M. ; FRIEDMAN, G. ; FRIDMAN, G. ; FRIDMAN, A. ; BROOKS, A. D.: Control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in planktonic form and biofilms: A biocidal efficacy study of nonthermal dielectric-barrier discharge plasma. In: *American Journal of Infection Control* 38 (2010), Mai, Nr. 4, S. 293–301. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2009.11.002>. – DOI 10.1016/j.ajic.2009.11.002 4, 5.2, 6

- [107] FRIDMAN, G. ; SHERESHEVSKY, A. ; JOST, M. ; BROOKS, A. ; FRIDMAN, A. ; GUTSOL, A. ; VASILETS, V. ; FRIEDMAN, G.: Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge Plasma in Air Promoting Apoptotic Behavior in Melanoma Skin Cancer Cell Lines. In: *Plasma Chemistry and Plasma Processing* 27 (2007), Nr. 2, S. 163–176. <http://dx.doi.org/10.1007/s11090-007-9048-4>. – DOI 10.1007/s11090-007-9048-4 4
- [108] DOBRYNIN, D. ; FRIDMAN, G. ; FRIEDMAN, G. ; FRIDMAN, A.: Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115020 (26pp). <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115020>. – DOI 10.1088/1367-2630/11/11/115020 4
- [109] AYAN, H. ; FRIDMAN, G. ; GUTSOL, A. F. ; VASILETS, V. N. ; FRIDMAN, A. ; FRIEDMAN, G.: Nanosecond-Pulsed Uniform Dielectric-Barrier Discharge. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 365 (2008), Nr. 2, S. 504–508. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2008.917947>. – DOI 10.1109/TPS.2008.917947 4
- [110] AYAN, H. ; STAACK, D. ; FRIDMAN, G. ; GUTSOL, A. ; MUKHIN, Y. ; STARIKOVSKII, A. ; FRIDMAN, A. ; FRIEDMAN, G.: Application of nanosecond-pulsed dielectric barrier discharge for biomedical treatment of topographically non-uniform surfaces. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 42 (2009), Nr. 12, S. 125202 (5pp). <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/42/12/125202>. – DOI 10.1088/0022-3727/42/12/125202 4, 5.3
- [111] AYAN, H. ; FRIDMAN, G. ; STAACK, D. ; GUTSOL, A. F. ; N. VASILETS, V. ; FRIDMAN, A. A. ; FRIEDMAN, G.: Heating Effect of Dielectric Barrier Discharges for Direct Medical Treatment. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 37 (2009), Nr. 1, S. 113–120. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2008.2006899>. – DOI 10.1109/TPS.2008.2006899 4
- [112] KALGHATGI, S. ; FRIEDMAN, G. ; FRIDMAN, A. ; CLYNE, A. M.: Endothelial Cell Proliferation is Enhanced by Low Dose Non-Thermal Plasma Through Fibroblast Growth Factor-2 Release. In: *Annals of Biomedical Engineering* 38 (2010), Nr. 3, 748–757. <http://dx.doi.org/10.1007/s10439-009-9868-x>. – DOI 10.1007/s10439-009-9868-x. – ISSN 0090-6964 4
- [113] KALGHATGI, S. ; KELLY, C. M. ; CERCHAR, E. ; TORABI, B. ; ALEKSEEV, O. ; FRIDMAN, A. ; FRIEDMAN, G. ; AZIZKHAN-CLIFFORD, J.:

- Effects of Non-Thermal Plasma on Mammalian Cells. In: *PLoS ONE* 6 (2011), Nr. 1, e16270(11pp). <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0016270>. – DOI 10.1371/journal.pone.0016270 4
- [114] KALGHATGI, S. ; FRIDMAN, A. ; AZIZKHAN-CLIFFORD, J. ; FRIEDMAN, G.: DNA Damage in Mammalian Cells by Non-thermal Atmospheric Pressure Microsecond Pulsed Dielectric Barrier Discharge Plasma is not Mediated by Ozone. In: *Plasma Processes and Polymers* 9 (2012), Nr. 7, 726-732. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.201100156>. – DOI 10.1002/ppap.201100156 4
- [115] FOEST, R. ; KINDEL, E. ; OHL, A. ; STIEBER, M. ; WELTMANN, K.-D.: Non-thermal atmospheric pressure discharges for surface modification. In: *Plasma Physics and Controlled Fusion* 47 (2005), Nr. 12B, S. B525–B536. <http://dx.doi.org/10.1088/0741-3335/47/12B/S38>. – DOI 10.1088/0741-3335/47/12B/S38 4
- [116] BRANDENBURG, R. ; EHLBECK, J. ; STIEBER, M. ; WOEDTKE, T. von ; ZEYMER, J. ; SCHLUETER, O. ; WELTMANN, K.-D.: Antimicrobial Treatment of Heat Sensitive Materials by Means of Atmospheric Pressure Rf-Driven Plasma Jet. In: *Contributions to Plasma Physics* 47 (2007), Nr. 1-2, S. 72–79. <http://dx.doi.org/10.1002/ctpp.200710011>. – DOI 10.1002/ctpp.200710011 4
- [117] WELTMANN, K.-D. ; BRANDENBURG, R. ; WOEDTKE, T. von ; EHLBECK, J. ; FOEST, R. ; STIEBER, M. ; KINDEL, E.: Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (APPJs). In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 41 (2008), Nr. 19, S. 194008(6pp). <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/41/19/194008>. – DOI 10.1088/0022-3727/41/19/194008 4
- [118] WELTMANN, K.-D. ; KINDEL, E. ; BRANDENBURG, R. ; MEYER, C. ; BUSSIAHN, R. ; WILKE, C. ; WOEDTKE, T. von: Atmospheric Pressure Plasma Jet for Medical Therapy: Plasma Parameters and Risk Estimation. In: *Contributions to Plasma Physics* 49 (2009), Nr. 9, S. 631–640. <http://dx.doi.org/10.1002/ctpp.200910067>. – DOI 10.1002/ctpp.200910067 4, 5.4
- [119] WELTMANN, K.-D.: PlasmaplusBio/Med. In: *Vakuum in Forschung und Praxis* 18 (2006), Nr. 5, S. 3. <http://dx.doi.org/10.1002/vipr.200690059>. – DOI 10.1002/vipr.200690059 4

- [120] HÄHNEL, M. ; WOEDTKE, T. von ; WELTMANN, K.-D.: Influence of the Air Humidity on the Reduction of Bacillus Spores in a Defined Environment at Atmospheric Pressure Using a Dielectric Barrier Surface Discharge. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 7, S. 244–249. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900076>. – DOI 10.1002/ppap.200900076 4
- [121] OEHMIGEN, K. ; HÄHNEL, M. ; BRANDENBURG, R. ; WILKE, C. ; WELTMANN, K.-D. ; WOEDTKE, Th. von: The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, S. 250–257. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900077>. – DOI 10.1002/ppap.200900077 4
- [122] LADEMAN, J. ; RICHTER, H. ; ALBOROVA, A. ; HUMME, D. ; PATZELT, A. ; KRAMER, A. ; WELTMANN, K.-D. ; HARTMANN, B. ; OTTOMANN, C. ; FLUHR, J. W. ; HINZ, P. ; HUBNER, G. ; LADEMAN, O.: Risk assessment of the application of a plasma jet in dermatology. In: *Journal of Biomedical Optics* 14 (2009), Nr. 5, 054025. <http://dx.doi.org/10.1117/1.3247156>. – DOI 10.1117/1.3247156 4
- [123] DAESCHLEIN, G. ; WOEDTKE, T. von ; KINDEL, E. ; BRANDENBURG, R. ; WELTMANN, K.-D. ; JÜNGER, M.: Antibacterial Activity of an Atmospheric Pressure Plasma Jet Against Relevant Wound Pathogens in vitro on a Simulated Wound Environment. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, S. 224–230. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900059>. – DOI 10.1002/ppap.200900059 4, 5.3
- [124] FLUHR, J. W. ; SASSNING, S. ; LADEMAN, O. ; DARVIN, M. E. ; SCHANZER, S. ; KRAMER, A. ; RICHTER, H. ; STERRY, W. ; LADEMAN, J.: In vivo skin treatment with tissue-tolerable plasma influences skin physiology and antioxidant profile in human stratum corneum. In: *Experimental Dermatology* 21 (2012), Nr. 2, S. 130–134. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0625.2011.01411.x>. – DOI 10.1111/j.1600-0625.2011.01411.x 4
- [125] DAESCHLEIN, G. ; SCHOLZ, S. ; AHMED, R. ; MAJUMDAR, A. ; WOEDTKE, T. von ; HAASE, H. ; NIGGEMEIER, M. ; KINDEL, E. ; BRANDENBURG, R. ; WELTMANN, K.-D. ; JÜNGER, M.: Cold plasma is well-tolerated and does not disturb skin barrier or reduce skin moisture. In: *JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft* 10 (2012), Nr. 7, S. 509–515. <http://dx.doi.org/10.1111/j>.

- 1610-0387.2012.07857.x. – DOI 10.1111/j.1610-0387.2012.07857.x  
4
- [126] DAESCHLEIN, G. ; SCHOLZ, S. ; AHMED, R. ; WOEDTKE, T. von ; HAASE, H. ; NIGGEMEIER, M. ; KINDEL, E. ; BRANDENBURG, R. ; WELTMANN, K.-D. ; JÜNGER, M.: Skin decontamination by low-temperature atmospheric pressure plasma jet and dielectric barrier discharge plasma. In: *Journal of Hospital Infection* 81 (2012), Nr. 3, 177-183. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670112000965>. – ISSN 0195-6701 4, 5.3, 6
- [127] METELMANN, H.-R. ; WOEDTKE, T. von ; BUSSIAHN, R. ; WELTMANN, K.-D. ; RIECK, M. ; KHALILI, R. ; PODMELLE, F. ; WAITE, P. D.: Experimental Recovery of CO<sub>2</sub>-Laser Skin Lesions by Plasma Stimulation. In: *The American Journal of Cosmetic Surgery* 29 (2012), Nr. 1, S. 52-56. <http://dx.doi.org/http://dx.doi.org/10.5992/AJCS-D-11-00042.1>. – DOI <http://dx.doi.org/10.5992/AJCS-D-11-00042.1> 4
- [128] METELMANN, H.-R. ; VU, T. T. ; DO, H. T. ; LE, T. N. B. ; HOANG, T. H. A. ; PHI, T. T. T. ; LUONG, T. M. L. ; DOAN, V. T. ; NGUYEN, T. T. H. ; NGUYEN, T. H. M. ; NGUYEN, T. L. ; LE, D. Q. ; LE, T. K. X. ; WOEDTKE, T. von ; BUSSIAHN, R. ; WELTMANN, K.-D. ; KHALILI, R. ; PODMELLE, F.: Scar formation of laser skin lesions after cold atmospheric pressure plasma (CAP) treatment: A clinical long term observation. In: *Clinical Plasma Medicine* 1 (2013), Nr. 1, S. 30-35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cpme.2012.12.001>. – DOI 10.1016/j.cpme.2012.12.001 4
- [129] STOLZ, W. ; GEORGI, M. ; SCHMIDT, H.-U. ; RAMRATH, K. ; POMPL, R. ; SHIMIZU, T. ; STEFFES, B. ; BUNK, W. ; PETERS, B. ; JAMITZKY, F. ; MORFILL, G.: *Low-temperature Argon plasma for the sterilization of chronic wounds: from bench to bedside*. International Conference on Plasma Medicine 1, Corpus Christi, USA (15.-18. Oktober). <http://www2011.mpe.mpg.de/theory/plasma-med/abstracts/AbstractNo13-WStolz-CorpusChristi-2007.pdf>. Version: 2007 4
- [130] SHIMIZU, T. ; STEFFES, B. ; POMPL, R. ; JAMITZKY, F. ; BUNK, W. ; RAMRATH, K. ; GEORGI, M. ; STOLZ, W. ; SCHMIDT, H.-U. ; URAYAMA, T. ; FUJII, S. ; MORFILL, G. E.: Characterization of Microwave Plasma Torch for Decontamination. In: *Plasma Processes and Polymers* 5 (2008), Nr. 6, S. 577-582. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200800021>. – DOI 10.1002/ppap.200800021 4



- [131] SHIMIZU, T. ; NOSENKO, T. ; MORFILL, G. E. ; SATO, T. ; SCHMIDT, H.-U. ; URAYAMA, T.: Characterization of Low-Temperature Microwave Plasma Treatment With and Without UV Light for Disinfection. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, S. 288–293. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900085>. – DOI 10.1002/ppap.200900085 4
- [132] POMPL, R. ; JAMITZKY, F. ; SHIMIZU, T. ; STEFFES, B. ; BUNK, W. ; SCHMIDT, H.-U. ; GEORGI, Ma. ; RAMRATH, K. ; STOLZ, W. ; STARK, R. W. ; URAYAMA, T. ; FUJII, S. ; MORFILL, G. E.: The effect of low-temperature plasma on bacteria as observed by repeated AFM imaging. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115023 (11pp). <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115023>. – DOI 10.1088/1367-2630/11/11/115023 4, 5.2
- [133] MORFILL, G. E. ; SHIMIZU, T. ; STEFFES, B. ; SCHMIDT, H.-U.: Nosocomial infections: a new approach towards preventive medicine using plasmas. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115019 (10pp). <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115019>. – DOI 10.1088/1367-2630/11/11/115019 4
- [134] ISBARY, G. ; MORFILL, G. ; SCHMIDT, H. U. ; GEORGI, M. ; RAMRATH, K. ; HEINLIN, J. ; KARRER, S. ; LANDTHALER, M. ; SHIMIZU, T. ; STEFFES, B. ; BUNK, W. ; MONETTI, R. ; ZIMMERMANN, J. L. ; POMPL, R. ; STOLZ, W.: A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients. In: *British Journal of Dermatology* 163 (2010), Nr. 1, S. 78–82. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2010.09744.x>. – DOI 10.1111/j.1365-2133.2010.09744.x 4, 6
- [135] ISBARY, G. ; HEINLIN, J. ; SHIMIZU, T. ; ZIMMERMANN, J.L. ; MORFILL, G. ; SCHMIDT, H.-U. ; MONETTI, R. ; STEFFES, B. ; BUNK, W. ; LI, Y. ; KLÄMPFL, T. ; KARRER, S. ; LANDTHALER, M. ; STOLZ, W.: Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial. In: *British Journal of Dermatology* 167 (2012), Nr. 2, S. 404–410. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2133.2012.10923.x>. – DOI 10.1111/j.1365-2133.2012.10923.x 4, 6
- [136] ROBERT, E. ; BARBOSA, E. ; DOZIAS, S. ; VANDAMME, M. ; CACHONCINLE, C. ; VILADROSA, R. ; POUVESLE, J.-M.: Experimental Study

- of a Compact Nanosecond Plasma Gun. In: *Plasma Processes and Polymers* 6 (2009), Nr. 12, S. 795–802. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900078>. – DOI 10.1002/ppap.200900078 4
- [137] VANDAMME, M. ; ROBERT, E. ; PESNEL, S. ; BARBOSA, E. ; DOZIAS, S. ; SOBILO, J. ; LERONDEL, S. ; PAPE, A. L. ; POUVESLE, J.-M.: Antitumor Effect of Plasma Treatment on U87 Glioma Xenografts: Preliminary Results. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, S. 264–273. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900080>. – DOI 10.1002/ppap.200900080 4
- [138] VANDAMME, M. ; ROBERT, E. ; LERONDEL, S. ; SARRON, V. ; RIES, D. ; DOZIAS, S. ; SOBILO, J. ; GOSSET, D. ; KIEDA, C. ; LEGRAIN, B. ; POUVESLE, J.-M. ; PAPE, A. L.: ROS implication in a new antitumor strategy based on non-thermal plasma. In: *International Journal of Cancer* 130 (2012), Nr. 9, S. 2185–2194. <http://dx.doi.org/10.1002/ijc.26252>. – DOI 10.1002/ijc.26252 4
- [139] SHASHURIN, A. ; KEIDAR, M. ; BRONNIKOV, S. ; JURJUS, R. A. ; STEPP, M. A.: Living tissue under treatment of cold plasma atmospheric jet. In: *Applied Physics Letters* 93 (2008), Nr. 18, 181501. <http://dx.doi.org/10.1063/1.3020223>. – DOI 10.1063/1.3020223 4
- [140] KEIDAR, M. ; SHASHURIN, A. ; VOLOTSKOVA, O. ; STEPP, M.A. ; SRINIVASAN, P. ; SANDLER, A. ; TRINK, B.: Cold atmospheric plasma in cancer therapy. In: *Physics of Plasmas* 20 (2013), Nr. 5, 057101. <http://dx.doi.org/10.1063/1.4801516>. – DOI 10.1063/1.4801516 4
- [141] VLEUGELS, M. ; SHAMA, G. ; DENG, X. T. ; GREENACRE, E. ; BROCKLEHURST, T. ; KONG, M. G.: Atmospheric plasma inactivation of biofilm-forming bacteria for food safety control. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 33 (2005), Nr. 2, S. 824–828. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2005.844524>. – DOI 10.1109/TPS.2005.844524 4
- [142] DENG, X. ; SHI, J. ; KONG, M. G.: Physical Mechanisms of Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores Using Cold Atmospheric Plasmas. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 34 (2006), Nr. 4, S. 1310–1316. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2006.877739>. – DOI 10.1109/TPS.2006.877739 4

- [143] PERNI, S. ; SHAMA, G. ; HOBMAN, J. L. ; LUND, P. A. ; KERSHAW, C. J. ; HIDALGO-ARROYO, G. A. ; PENN, C. W. ; DENG, X. T. ; WALSH, J. L. ; KONG, M. G.: Probing bactericidal mechanisms induced by cold atmospheric plasmas with *Escherichia coli* mutants. In: *Applied Physics Letters* 90 (2007), Nr. 7, 073902. <http://dx.doi.org/10.1063/1.2458162>. – DOI 10.1063/1.2458162 4
- [144] BAYLISS, D. L. ; SHAMA, G. ; KONG, M. G.: Restoration of antibiotic sensitivity in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* following treatment with a non-thermal atmospheric gas plasma. In: *International Journal of Antimicrobial Agents* 41 (2013), Nr. 4, S. 398–399. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2012.12.005>. – DOI 10.1016/j.ijantimicag.2012.12.005 4
- [145] NIE, Q.Y. ; CAO, Z. ; REN, C.S. ; WANG, D.Z. ; KONG, M.G.: A two-dimensional cold atmospheric plasma jet array for uniform treatment of large-area surfaces for plasma medicine. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115015(14pp). <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115015>. – DOI 10.1088/1367-2630/11/11/115015 4
- [146] KOLB, J. F. ; MATTSON, A. M. ; EDELBLUTE, C. M. ; HAO, X. ; MALIK, M. A. ; HELLER, L. C.: Cold DC-Operated Air Plasma Jet for the Inactivation of Infectious Microorganisms. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 40 (2012), Nr. 11, S. 3007–3026. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2012.2216292>. – DOI 10.1109/TPS.2012.2216292 4
- [147] BABAEVA, N. Y. ; NING, N. ; GRAVES, D. B. ; KUSHNER, M. J.: Ion activation energy delivered to wounds by atmospheric pressure dielectric-barrier discharges: sputtering of lipid-like surfaces. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 45 (2012), Nr. 11, S. 115203 (12pp). <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/45/11/115203>. – DOI 10.1088/0022-3727/45/11/115203 4
- [148] KONG, M. G. ; KROESEN, G. ; MORFILL, G. ; NOSENKO, T. ; SHIMIZU, T. ; DIJK, J. van ; ZIMMERMANN, J. L.: Plasma medicine: an introductory review. In: *New Journal of Physics* 11 (2009), Nr. 11, S. 115012 (35pp). <http://dx.doi.org/10.1088/1367-2630/11/11/115012>. – DOI 10.1088/1367-2630/11/11/115012 4, 5.2, 5.3
- [149] LLOYD, G. ; FRIDMAN, G. ; JAFRI, S. ; SCHULTZ, G. ; FRIDMAN, A. ; HARDING, K.: Gas Plasma: Medical Uses and Developments in

- Wound Care. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3-4, 194-211. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900097>. – DOI 10.1002/ppap.200900097 4
- [150] EHLBECK, J. ; SCHNABEL, U. ; POLAK, M. ; WINTER, J. ; WOEDTKE, T. von ; BRANDENBURG, R. ; HAGEN, T. von d. ; WELTMANN, K.-D.: Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 44 (2011), Nr. 1, S. 013002. <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/44/1/013002>. – DOI 10.1088/0022-3727/44/1/013002 4, 5.3
- [151] LAROUCSI, Mounir (Hrsg.) ; KONG, Michael G. (Hrsg.) ; MORFILL, Gregor (Hrsg.) ; STOLZ, Wilhelm (Hrsg.): *Plasma Medicine - Applications of Low-Temperature Gas Plasmas in Medicine and Biology*. Bd. 1. New York : Cambridge University Press, 2012. – 416 S. [http://www.cambridge.org/gb/knowledge/isbn/item6641387/?site\\_locale=en\\_GB](http://www.cambridge.org/gb/knowledge/isbn/item6641387/?site_locale=en_GB) 4
- [152] FRIDMAN, Alexander ; FRIEDMAN, Gary: *Plasma Medicine*. Bd. 2. Chinchester : John Wiley & Sons, Ltd., 2013. – 526 S. <http://www.wiley-vch.de/publish/dt/books/ISBN978-0-470-68969-1/> 4
- [153] *aufgerufen am 22.11.2010*. <http://www.begellhouse.com/journals/5a5b4a3d419387fb> 4
- [154] *aufgerufen am 17.03.2013*. <http://www.elsevier.com/journals/clinical-plasma-medicine/2212-8166> 4
- [155] DISSEMOND, J.: Die Bedeutung des pH-Wertes für die Wundheilung. In: *WundForum* 1 (2006), 15-19. [http://www.wundheilung.net/News/2006/Dissemond\\_2.pdf](http://www.wundheilung.net/News/2006/Dissemond_2.pdf) 5.1, 6
- [156] SCHNEIDER, L. ; KORBER, A. ; GRABBE, S. ; DISSEMOND, J.: Influence of pH on wound-healing: a new perspective for wound-therapy? In: *Archives of Dermatological Research* 298 (2007), Nr. 9, 413-420. <http://dx.doi.org/10.1007/s00403-006-0713-x> 5.1
- [157] BURLICA, R. ; KIRKPATRICK, M. J. ; LOCKE, B. R.: Formation of reactive species in gliding arc discharges with liquid water. In: *Journal of Electrostatics* 64 (2006), Nr. 1, S. 35-43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.elstat.2004.12.007>. – DOI 10.1016/j.elstat.2004.12.007 5.1

- [158] SIDDQUI, A. R. ; BERNSTEIN, J. M.: Chronic wound infection: Facts and controversies. In: *Clinics in Dermatology* 28 (2010), Nr. 5, S. 519–526. <http://dx.doi.org/10.1016/j.clindermatol.2010.03.009>. – DOI 10.1016/j.clindermatol.2010.03.009 5.2
- [159] EDWARDS, R. ; HARDING, K. G.: Bacteria and wound healing. In: *Current Opinion in Infectious Diseases* 17 (2004), Nr. 2, 91–96. [http://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/Abstract/2004/04000/Bacteria\\_and\\_wound\\_healing.4.aspx](http://journals.lww.com/co-infectiousdiseases/Abstract/2004/04000/Bacteria_and_wound_healing.4.aspx) 5.2
- [160] LANDIS, S. J.: Chronic Wound Infection and Antimicrobial Use. In: *Advances in Skin and Wound Care* 21 (2008), Nr. 11, S. 531–540. <http://dx.doi.org/10.1097/01.ASW.0000323578.87700.a5>. – DOI 10.1097/01.ASW.0000323578.87700.a5 5.2
- [161] ZIEBUHR, W. ; HENNIG, S. ; ECKART, M. ; KRÄNZLER, H. ; BATZILLA, C. ; KOZITSKAYA, S.: Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen. In: *International Journal of Antimicrobial Agents* 28 (2006), Nr. 1, S. 14–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.05.012>. – DOI 10.1016/j.ijantimicag.2006.05.012 5.2
- [162] MURANYI, P. ; WUNDERLICH, J. ; HEISE, M.: Sterilization efficiency of a cascaded dielectric barrier discharge. In: *Journal of Applied Microbiology* 103 (2007), 13. Juni 2007, Nr. 5, S. 1535–1544. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03385.x>. – DOI 10.1111/j.1365-2672.2007.03385.x 5.2
- [163] KAMGANG, J. O. ; BRIANDET, R. ; HERRY, J. M. ; BRISSET, J. M. ; NAÏTALI, M.: Destruction of planktonic, adherent and biofilm cells of *Staphylococcus epidermidis* using a gliding discharge in humid air. In: *Journal of Applied Microbiology* 103 (2007), Nr. 3, S. 621–628. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03286.x>. – DOI 10.1111/j.1365-2672.2007.03286.x 5.2, 6
- [164] SCHOLTZ, V. ; JULAK, J. ; KRIHA, V.: The Microbicidal Effect of Low-Temperature Plasma Generated by Corona Discharge: Comparison of Various Microorganisms on an Agar Surface or in Aqueous Suspension. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 3–4, 237–243. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900072>. – DOI 10.1002/ppap.200900072 5.2

- [165] COOHILL, T. P. ; SAGRIPANTI, J.-L.: Overview of the Inactivation by 254 nm Ultraviolet Radiation of Bacteria with Particular Relevance to Biodefense. In: *Photochemistry and Photobiology* 84 (2008), Nr. 5, S. 1084–1090. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1751-1097.2008.00387.x>. – DOI 10.1111/j.1751-1097.2008.00387.x 5.2
- [166] BROWN, G. D. ; DENNING, D. W. ; LEVITZ, Stuart M.: Tackling Human Fungal Infections. In: *Science Translational Medicine* 336 (2012), Nr. 6082, S. 647. <http://dx.doi.org/10.1126/science.1222236>. – DOI 10.1126/science.1222236 5.3
- [167] O'DELL, M. L.: Skin and wound infections: an overview. In: *American Family Physician* 57 (1998), Nr. 10, 2424-2432. <http://www.aafp.org/afp/1998/0515/p2424.html> 5.3
- [168] DAESCHLEIN, G. ; SCHOLZ, S. ; WOEDTKE, T. v. ; NIGGEMEIER, M. ; KINDEL, E. ; BRANDENBURG, R. ; WELTMANN, K.-D. ; JÜNGER, M.: In Vitro Killing of Clinical Fungal Strains by Low-Temperature Atmospheric-Pressure Plasma Jet. In: *IEEE Transactions on Plasma Science* 39 (2011), Nr. 2, S. 815–821. <http://dx.doi.org/10.1109/TPS.2010.2063441>. – DOI 10.1109/TPS.2010.2063441 5.3
- [169] DAESCHLEIN, G. ; SCHOLZ, S. ; ARNOLD, A. ; PODEWILS, S. von ; HAASE, H. ; EMMERT, S. ; WOEDTKE, T. von ; WELTMANN, K.-D. ; JUENGER, M.: In Vitro Susceptibility of Important Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD). In: *Plasma Processes and Polymers* 9 (2012), Nr. 4, 380-389. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.201100160>. – DOI 10.1002/ppap.201100160. – ISSN 1612-8869 5.3
- [170] Weltärztebund (WMA), *Deklaration von Helsinki, Version 2008*, aufgerufen am 10.08.2013. <http://www.bundesaerztekammer.de/downloads/DeklHelsinki2008.pdf> 5.4
- [171] WANDKE, D.: *Medizinisch nutzbare Effekte durch eine dielektrisch behinderte Entladung (DBD): Untersuchungen zu Anwendungssicherheit und Therapieoptionen*, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Dissertation, 2011. [http://ub-ed.ub.uni-greifswald.de/opus/volltexte/2012/1217/pdf/Version\\_fuer\\_Abgabe\\_Bibliothek\\_20120409\\_1.pdf](http://ub-ed.ub.uni-greifswald.de/opus/volltexte/2012/1217/pdf/Version_fuer_Abgabe_Bibliothek_20120409_1.pdf) 5.4

- [172] KUCHENBECKER, M. ; BIBINOV, N. ; KAEMLING, A. ; WANDKE, D. ; AWAKOWICZ, P. ; VIÖL, W.: Characterization of DBD plasma source for biomedical applications. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 42 (2009), Nr. 4, S. 045212 (10pp). <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/42/4/045212>. – DOI 10.1088/0022-3727/42/4/045212 5.4
- [173] RAJASEKARAN, P. ; MERTMANN, P. ; BIBINOV, N. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W. ; AWAKOWICZ, P.: DBD plasma source operated in single-filamentary mode for therapeutic use in dermatology. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 42 (2009), Nr. 22, S. 225201(8pp). <http://dx.doi.org/10.1088/0022-3727/42/22/225201>. – DOI 10.1088/0022-3727/42/22/225201 5.4
- [174] RAJASEKARAN, P. ; MERTMANN, P. ; BIBINOV, N. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W. ; AWAKOWICZ, P.: Filamentary and Homogeneous Modes of Dielectric Barrier Discharge (DBD) in Air: Investigation through Plasma Characterization and Simulation of Surface Irradiation. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 8, S. 665–675. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900175>. – DOI 10.1002/ppap.200900175 5.4
- [175] RAJASEKARAN, P. ; OPLAENDER, C. ; HOFFMEISTER, D. ; BIBINOV, N. ; SUSCHEK, C. V. ; WANDKE, D. ; AWAKOWICZ, P.: Characterization of Dielectric Barrier Discharge (DBD) on Mouse and Histological Evaluation of the Plasma-Treated Tissue. In: *Plasma Processes and Polymers* 8 (2011), Nr. 3, S. 246–255. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.201000122>. – DOI 10.1002/ppap.201000122 5.4
- [176] MERTENS, N. ; HELMKE, A. ; GOPPOLD, A. ; EMMERT, S. ; KAEMLING, A. ; WANDKE, D. ; VIÖL, W.: *Low temperature Plasma Treatment of Human Tissue*. Vortrag auf der 2nd International Conference on Plasma Medicine (ICPM), San Antonio, USA (16.-20. März). <http://icpm2.plasmainstitute.org/program.php>. Version: 2009 6
- [177] IKAWA, S. ; KITANO, K. ; HAMAGUCHI, S.: Effects of pH on Bacterial Inactivation in Aqueous Solutions due to Low-Temperature Atmospheric Pressure Plasma Application. In: *Plasma Processes and Polymers* 7 (2010), Nr. 1, S. 33–42. <http://dx.doi.org/10.1002/ppap.200900090>. – DOI 10.1002/ppap.200900090 6
- [178] JAMES, G. A. ; SWOGGER, E. ; WOLCOTT, R. ; PULCINI, E. ; SECOR, P. ; SESTRICH, J. ; COSTERTON, J. W. ; STEWART, P. S.: Biofilms in chronic wounds. In: *Wound Repair and Regeneration* 16 (2008), Nr. 1,

- S. 37–44. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1524-475X.2007.00321.x>. – DOI 10.1111/j.1524-475X.2007.00321.x 6
- [179] ERMOLAEVA, S. A. ; VARFOLOMEEV, A. F. ; CHERNUKHA, M. Y. ; YUROV, D. S. ; VASILIEV, M. ; KAMINSKAYA, A. A. ; MOISENOVICH, M. M. ; ROMANOVA, J. M. ; MURASHEV, A. N. ; SELEZNEVA, I. I. ; SHIMIZU, T. ; SYSOLYATINA, E. V. ; SHAGINYAN, I. A. ; PETROV, O. F. ; MAYEVSKY, E. I. ; FORTOV, V. E. ; MORFILL, G. E. ; NARODITSKY, B. S. ; GINTSBURG, A. L.: Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. In: *Journal of Medical Microbiology* 60 (2011), Nr. 1, S. 75–83. <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.020263-0>. – DOI 10.1099/jmm.0.020263-0 6
- [180] KIM, P. Y. ; KIM, Y.-S. ; KOO, I. G. ; JUNG, J. C. ; KIM, G. J. ; CHOI, M. Y. ; YU, Z. ; COLLINS, G. J.: Bacterial inactivation of wound infection in a human skin model by liquid-phase discharge plasma. In: *PloS one* 6 (2011), Nr. 8, S. e24104. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0024104>. – DOI 10.1371/journal.pone.0024104 6



# Anhang A

## Glossar

Wegen der interdisziplinären Konzeption dieser Arbeit war es notwendig, Fachbegriffe aus der (Plasma-)Physik, der Biologie und der Medizin zu verwenden, deren Bedeutung sich dem fachfremden Leser unter Umständen nicht ganzheitlich erschließt. Aufgrund der überwiegend physikalisch geprägten Arbeitsinhalte, werden in diesem Kapitel die im Hauptteil der Arbeit mit einem Asterisk (\*) versehenen Begriffe aus (Mikro-)Biologie und Medizin in alphabetischer Reihenfolge aufgelistet und kurz erläutert.

<b>Begriff</b>	<b>Erläuterung</b>
Antisepsis	Sammelbegriff für alle Maßnahmen, die durch Keim-reduzierung bzw. -inaktivierung auf die Vermeidung einer Infektion abzielen
Agar	algenbasiertes Geliermittel, das standardmäßig Nähr-medien in der Mikrobiologie zugesetzt wird
Apoptose	von einer biologischen Zelle initiiertes „Selbstmordpro-gramm“ als Reaktion auf Immunreize oder Schädigung der Erbinformation (auch: programmierter Zelltod)
Biopstat	im Rahmen einer Biopsie dem Organismus entnommene Gewebeprobe, die erst nach Entnahme analysiert wird
Cornea	zur äußeren Augenhaut gehörende Hornhaut

Begriff	Erläuterung
D-Wert	mikrobiologischer Parameter, der die Zeit für die Reduzierung einer Population um eine Größenordnung angibt
Mykose	eine durch Pilze oder Hefen hervorgerufene Infektionskrankheit des Gewebes (auf Haut: Dermatomykose)
Epidermis	besteht aus mehrschichtigen, verhornenden Zellen und bildet als Oberhaut die äußerste der 3 Hautschichten: Epidermis, Dermis (Lederhaut), Subkutis (Unterhaut)
Eukaryoten	Bezeichnung für alle zellulären Lebewesen, die über einen Zellkern verfügen, in dem sich der Hauptteil des genetischen Materials befindet
ex vivo	Bezeichnung für organische Vorgänge, die außerhalb eines lebenden Organismus, aber an diesem Organismus entnommenen Probenmaterial untersucht werden
Genotoxizität	DNA-verändernde Stoffe und Vorgänge bzw. Verfahren, um DNA-Veränderungen nachzuweisen
Gram-Färbung	Färbemethodik, durch welche sich Bakterien hinsichtlich des Aufbaus ihrer Zellwand klassifizieren lassen: <u>gram-positiv</u> : durch Teichonsäuren in der Zellwand wird der eingebrachte Farbstoff nicht durch Alkohol ausgewaschen und die Bakterien erscheinen dunkelblau <u>gram-negativ</u> : da keine Teichonsäuren vorhanden sind, wird der Farbstoff nach Einfärbung wieder entfernt
Hämostase	Summe aller physiologischen Prozesse, welche zur Stillung einer Blutung führen
in vitro	Bezeichnung für organische Vorgänge, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden bzw. unter diesen Rahmenbedingungen untersucht werden
in vivo	Bezeichnung für organische Vorgänge, die innerhalb eines lebenden Organismus stattfinden bzw. unter diesen Rahmenbedingungen untersucht werden

Begriff	Erläuterung
Indikation	medizinischer Begriff, der den Grund für den Einsatz einer therapeutischen Maßnahme bezeichnet (z.B. ein bestimmtes Krankheitsbild)
Inflammation	Fachbegriff für eine Entzündung als charakteristische Antwort des Gewebes auf potentiell schädigende Reize
Keratose	krankhafte Veränderungen der obersten Hautschicht, des aus Hornzellen bestehenden Stratum corneum
Koagulation	Blutgerinnung
Methicillin-resistent	Bakterien mit dieser Eigenschaft können selbst durch besonders stabile Antibiotika nicht abgetötet werden
mikrobio-statisch	Maßnahmen, die dazu führen, dass Mikroorganismen ihre Zellteilung einstellen und sich nicht vermehren
mikrobizid	Maßnahmen, die dazu führen, dass Mikroorganismen abgetötet werden
Nekrose	Absterben von biologischen Zellen, weil externe Reize wie z.B. Gifte, Wärme oder Strahlung substantielle Zellfunktionen außer Kraft gesetzt haben
nosokomial	auf das Krankenhaus bezogen bzw. im Krankenhaus erworben (oft auch: nosokomiale Infektion)
pathogen	(auf Mikroorganismen bezogen) potentiell krankmachend
präkanzerös	Gewebeveränderungen, die histopathologisch Vorzeichen einer bösartigen Entartung (Krebserkrankung) sind
Prokaryoten	Oberbegriff für alle zellulären Lebewesen aus den Domänen Bakterien und Archaeen. Prokaryoten verfügen nicht über einen Zellkern - die DNA befindet sich stattdessen frei im Zytoplasma
Ulcus cruris	tiefer, meist nässender Substanzdefekt an der Haut des Unterschenkels, der sich als Folge einer Grunderkrankung chronisch ausbilden kann

Begriff	Erläuterung
Virulenz	nicht einheitlich definiertes Maß für die Toxizität und Aggressivität eines Erregers (Pathogens)
Zyto-toxizität	zellschädigende oder -zerstörende Stoffe und Vorgänge bzw. Verfahren, um Zellschädigungen nachzuweisen

## Anhang B

### Eidesstattliche Erklärungen

Helmke, Andreas

Datum: 18.12.2013

### **EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG**

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass ich die bei der Fakultät für Natur- und Materialwissenschaften der Technischen Universität Clausthal eingereichte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte Hilfe verfasst und die benutzten Hilfsmittel vollständig angegeben habe.

Unterschrift

Helmke, Andreas

Datum: 18.12.2013

### EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich an Eides Statt, dass die eingereichte Dissertation weder in Teilen noch in Ihrer Gesamtheit einer anderen Hochschule zur Begutachtung vorliegt oder vorgelegen hat und dass ich bisher noch keinen Promotionsversuch unternommen habe.

Unterschrift

# Anhang C

## Lebenslauf

Name und Anschrift:        Andreas Helmke  
                                 Waldstr. 28  
                                 37574 Einbeck  
                                 andreas.helmke@online.de  
Geburtsdatum und -ort:    23.05.1978 in Einbeck  
Staatsangehörigkeit:        deutsch

Daten	Schule und Studium
09/1994 - 08/1997 10.06.1997	Besuch des Fachgymnasium Technik der BBS Einbeck Bestandene Abiturprüfung
09/1999 - 09/2004 30.09.2004	Studium der Physiktechnik an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst, Göttingen Abschluss: Dipl.-Ing. (FH)
09/2004 - 09/2006 28.09.2006	Aufbaustudium Optical Engineering an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst, Göttingen Abschluss: Master of Science
10/2007 - 12/2013	Promotionsstudiengang Physikalische Technologien an der Technischen Universität Clausthal



<b>Daten</b>	<b>Beruf</b>
08/1997 - 08/1998	Ableistung des Zivildienstes bei der Harz-Weser-Werkstätten gGmbH, Dassel
09/1998 - 02/1999	Tätigkeit als pflegerische Hilfskraft bei der Harz-Weser-Werkstätten gGmbH, Dassel
10/2004 - 02/2010	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst (HAWK), Göttingen
02/2010 - 12/2010	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Leibniz-Institut für Plasmaforschung und Technologie e.V. (INP), Greifswald/Göttingen
01/2011 - 12/2012	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst (HAWK), Göttingen
seit 01/2013	Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Anwendungs- zentrum für Plasma und Photonik (APP) des Fraunhofer-Instituts für Schicht- und Oberflächen- technik (IST), Braunschweig/Göttingen

Göttingen, den 18.12.2013

Andreas Helmke